

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

**KONTROLLÜ HEMORAJİK ŞOK MODELİNDE  
OLUŞAN AKUT AKCİĞER HASARI ÜZERİNE G-CSF  
VE BETA-GLUKAN'IN ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**DR. ESRA NAYİR**

**ANESTEZİYOLOJİ VE REANİMASYON ANABİLİM DALI  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. BERİT GÖKÇE CEYLAN**

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından TU-08-1739  
proje numarası ile desteklenmiştir.**

**2009 - ISPARTA**

## ÖNSÖZ

Asistanlık eğitimim için geçen 5 yıl süresince tıp bilgisi haricinde hayat deneyimlerimden faydalandığım anabilimdalı başkanımız Doç. Dr. Füsun EROĞLU'na uzmanlık eğitimime katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tez çalışmamın her aşamasında bana ilgi ve desteklerini esirgemeyen, tez danışmanım Yrd. Doç. Dr. Berit Gökçe CEYLAN'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim süresince eğitimime büyük katkıları olan Doç. Dr. Lütfi Yavuz'a, Doç. Dr. Pakize KIRDEMİR'e, Yrd. Doç. Dr. Tülay Tunçer PEKER'e, Yrd. Doç. Dr. Dilek KARAASLAN'a teşekkür ederim.

Tezimin patoloji sonuçlarının değerlendirmesinde yardımcı olan ve ilgisini esirgemeyen Doç. Dr. Sema BİRCAN'a teşekkür ederim.

Tezimin biyokimyasal parametrelerinin değerlendirilmesinde desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Buket ARIDOĞAN, Doç. Dr. Selçuk KAYA'ya teşekkür ederim.

Tezimin ana fikrinin oluşturulmasında ve uygulama aşamasında deneysel çalışmalar ile ilgili tecrübelerini bana aktaran ve tezin deney kısmında kıymetli zamanını benden esirgemeyen Doç. Dr. Erol EROĞLU'na teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimimize acısıyla, tatlısıyla birçok anı sığdırdığımız asistan arkadaşlarıma, yoğun bakım ve ameliyathane çalışanlarına teşekkür ederim.

**İÇİNDEKİLER**

<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>i</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>ii</b>
<b>KISALTMALAR</b> .....	<b>iv</b>
<b>1. GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Hemorajik Şok .....	3
2.1.1. Hemorajik Şokun Fizyopatolojisi .....	3
2.1.2. Hücresel Yanıt.....	4
2.1.3. Organ Düzeyinde Yanıt .....	4
2.2. İskemi ve Reperfüzyon Hasarı .....	6
2.2.1. Ksantin Oksidaz Yolu .....	6
2.2.2. Nötrofiller (Polimorfonükleer Lökositler) .....	6
2.2.3. Endotelyal Faktörler.....	7
2.2.4. Platelet Aktive Edici Faktör.....	8
2.2.5. Komplemanlar.....	9
2.2.6. Sitokinler.....	9
2.2.6.1. İnterlökin 1 .....	10
2.2.6.2. İnterlökin 6.....	10
2.2.6.3. İnterlökin 10 .....	11
2.2.6.4. Tümör Nekrozis Faktör $\alpha$ .....	11
2.3. Serbest Oksijen Radikalleri.....	12
2.3.1. Serbest Radikallerin Kaynakları .....	12
2.3.2. Serbest Radikallerin Hücre Hasarındaki Rollerini .....	12
2.4. Akciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarı.....	14
2.5. Antioksidanlar .....	15
2.5.1. Antioksidan Enzimler .....	16
2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz .....	16
2.5.1.2. Katalaz .....	16
2.5.1.3. Glutasyon.....	16
2.5.1.4. Glutasyon Peroksidaz .....	16
2.5.2. Serbest Radikal Üretiminin İnhibisyonu.....	16
2.6. Granülosit Koloni Stimulan Faktör .....	17

2.7. Beta-Glukan .....	18
<b>3. MATERYAL ve METOD .....</b>	<b>20</b>
3.1. Araştırmanın Tipi .....	20
3.2. Deney Grubunun Seçimi .....	20
3.3. Araştırmanın Uygulaması ve Verilerin Toplanması .....	20
3.4. IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ Ölçümü İçin Kan Örneklerinin Hazırlanması .....	24
3.5. Akciğer Doku Örneklerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi .....	25
3.6. İstatistiksel Değerlendirme .....	26
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>27</b>
<b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ .....</b>	<b>46</b>
<b>SUMMARY .....</b>	<b>57</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>58</b>

**KISALTMALAR**

<b>ACTH</b>	Adrenokortikotrop Hormon
<b>ADH</b>	Antidiüretik Hormon
<b>ARDS</b>	Akut Respiratuar Distress Sendromu
<b>ATP</b>	Adenozin Trifosfat
<b>Ca</b>	Kalsiyum
<b>CR</b>	Kompleman Reseptör
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>G-CSF</b>	Granülosit Koloni Stimulan Faktör
<b>GSH</b>	Glutasyon
<b>H+</b>	Hidrojen
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	Hidrojen peroksit
<b>IL</b>	İnterlökin
<b>ICAM -1</b>	İntraselüler Adezyon Molekülü-1
<b>İ-R</b>	İskemi-Reperfüzyon
<b>KAT</b>	Katalaz
<b>MDA</b>	Malonil Dialdehit
<b>NADP+</b>	Nikotin Amid Adenin Dinükleotid
<b>NADPH</b>	Nikotin Amid Adenin Dinükleotid Fosfat
<b>NO</b>	Nitrik Oksit
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	Süperoksit Radikali
<b>OH<sup>-</sup></b>	Hidroksil
<b>PAF</b>	Platelet Aktive Edici Faktör
<b>PMNL</b>	Polimorfonükleer Lökositler
<b>SS</b>	Standart Sapma
<b>SOD</b>	Süperoksit Dismutaz
<b>SOR</b>	Serbest Oksijen Radikali
<b>TNF</b>	Tümör Nekrozis Faktör

## 1. GİRİŞ

Şok, intravasküler kan volümünün azalması nedeni ile meydana gelen yetersiz doku perfüzyonudur (1). Vücut dokularında hipoksi ve metabolizmanın bozulması sonucu asidoz, hücre hasarı, septik komplikasyonlar meydana gelir (1). Bu durum organ yetmezliğine neden olan fizyopatolojik etkenleri tetikleyerek doku hasarını artırır ve multiple organ yetmezliğine bağlı ölüm gelişir (2).

Hemorajik şok nedenli volüm azalması sonrasında gelişen akut akciğer hasarı morbidite ve mortaliteyi anlamlı şekilde arttırmaktadır. Hemorajik şokun resüsitasyonu sonucunda iskemi-reperfüzyon (İ-R) döngüsünden açığa çıkan mediyatörler sistemik inflamatuvar yolların aktivasyonuna neden olarak başta akciğerler olmak üzere, karaciğer, kalp, beyin ve böbrekler gibi uzak organlarda hasar oluştururlar.

İskemi-reperfüzyon döngüsü sonrasında gelişen sistemik inflamatuvar yanıtta en fazla akciğerler etkilenirler. Bu organdaki esas hasar alveolar kapiller membrandır. Reperfüzyon sonrası nötrofillerin etkileşimi sonucunda endotel yüzeyi boyunca nötrofil tutulumu gerçekleşir. Polimorfonükleer lökosit (PMNL)'lerin endotel hücrelerine adezyonu sonrası açığa çıkan toksik maddeler sonucu endotelyal tabakada hasar oluşur, kapiller permeabilite artar, alveolar ve interstisyel ödem gelişir. Şoktaki akciğerlerde görülen bu hasarın kliniği hafif bir tablodan ağır, geri döndürülemeyen solunum yetmezliğine kadar değişebilir. Oluşan akciğer hasarı hastada sıkıntılı solunum sendromuna yol açarak sistemik inflamatuvar yanıtın ölüme neden olan en önemli komplikasyonunu oluşturur (3).

Hemorajik şokun resüsitasyonu sonucunda travma hastalarında inflamatuvar uyarıya karşı bir cevap ortaya çıkmaktadır. Kronik fibrozise giden bu yolda önemli rolü olan mononükleer lökositlerin ve sitokinlerin organizasyonundan sorumlu maddelerden biri Granülosit Koloni Stimülan Faktördür (G-CSF). G-CSF'nin etkilerinin doz bağımlı olduğu, yüksek dozlarda direkt etki ile PMNL aktivasyonunu arttırarak inflamasyonun başlangıç ve devamında etkili olduğu bildirilmiştir (4,5).

Beta-glukan üzerine yapılan çalışmalarda ise preoperatif beta-glukan tedavisinin, immün sistem ve sitokin yanıtında regülatör T hücre düzeylerini artırarak

bu disregölasyonun Őiddetini azalttığı ve oluşan inflamatuvar sÜreci süprese ettiği gösterilmiştir (6).

Güçlü bir antioksidan ve immÜnomodÜlatÖr olduğu bilinen beta-glukanın ve inflamasyonda büyük rol oynayan nÖtrofilleri kesin olarak aktive ettiği bilinen G-CSF'nin hemorajik Şok modeli uygulanan ratlarda akut akciğer hasarı üzerine etkilerinin araŐtırılması amacı ile bu çalışma planlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Hemorajik Şok

Hemorajik şok, intravasküler dolaşan kan volümü miktarının azalması nedeni ile dokuların yetersiz perfüzyonudur. Yetersiz doku perfüzyonunun sonuçları hipoksi, anaerobik metabolizma, asidoz, inflamatuvar mediyatörlerin ortaya çıkması, organlardaki kan dolaşımının tekrar düzenlenmesi, hücre hasarı, septik komplikasyonlar ve multiorgan fonksiyon bozukluğu sendromudur (7).

#### 2.1.1. Hemorajik Şokun Fizyopatolojisi

Hemorajik şokun semptom ve bulguları; hipovoleminin derinliğine, şokun süresine ve uyum mekanizmalarının etkinliğine bağlıdır. Şokun kendisine ait patognomik bulguları yoktur. Şoktan etkilenen organlara ait bulgular aracılığı ile şok tanısına ulaşılır. Volüm kaybı ve hipovolemi sonrası periferik vasküler rezistansta artışa bağlı olarak cilt soğuk ve soluk görünümündür. Hipovolemiye bağlı taşikardi oluşur. Bazal metabolizma için gerekli olan, ihtiyacı karşılayabilecek sistemik oksijen taşınmasındaki yetersizlik, diğer şok formlarında olduğu gibi hemorajik şokta da esas problemi teşkil eder (2,8).

Hemoraji, venöz dönüşün azalmasına bağlı olarak ortalama arterial basınçta ve kan kaybının derecesine bağlı olarak kardiyak outputta azalmaya neden olur. Kan volümünün % 10'unun kaybı hemodinamik değişiklik yapmazken, % 35-45 volüm kaybı şoka neden olur (9).

Kanama ve hipotansiyonla birlikte gelişen fizyopatolojik olaylar, homeostazdaki bozulma, karotid sinüs ve arkus aortadaki özel reseptörler tarafından algılanır ve santral sinir sistemine iletilerek sempatik sistem aktive edilir. Kan basıncı 80 mmHg'nın altına düştüğünde baroreseptör uyarılır ve vazomotor refleks oluşur, 40 mmHg'nın altında ise beyin perfüzyonunun azalması sonucu sempatik sistem aktive olur. Oluşan bu cevap çok sayıda nöroendokrin efektöre ulaştırılır. Gelen afferent sinyallere bağlı olarak oldukça kompleks ve diffüz bir nörohormonal tepki ortaya çıkar. Bir bölümü saniyeler içinde diğer bir kısmı ise günler sonra ortaya çıkan bu tepkiler, temel olarak organizmanın yaşamını sürdürmesini amaçlayan uyum mekanizmalarıdır.



Hipovolemik şokta aşağıdaki kompensatuvar cevaplar ortaya çıkar;

1. Vazokonstriksiyon ve taşikardiye yol açan, periferik vasküler rezistansı, kardiak output ve kan basıncını artıran, epinefrin ve norepinefrin salgılanması,
2. Artmış sempatik aktivite, artmış myokardial kontraktilite ve artmış venöz dönüş,
3. Katekolaminlerin alfa-adrenerjik reseptörlere etkisi ile insülin salınımında azalmaya bağlı hiperglisemi ve lipoliz (10),
4. Renal kan akımında azalmaya bağlı renin-anjiyotensin-aldosteron salınımı (11),
5. Artmış su rezorbsiyonuna ve splanknik vazokonstriksiyona izin veren, su geçirgenliğini ve pasif sodyum ( $\text{Na}^+$ ) transportunu arttıran, antidiüretik hormon (ADH) sekresyonunda artış (12),
6. Adrenokortikotrop hormon (ACTH) stimülasyonu ve kortizol salınımı (13).

### **2.1.2. Hücresel Yanıt**

Vücuttaki oksijen gereksinimi metabolik ihtiyaca göre değişmektedir. Oksijen kritik seviyenin daha altına indiğinde oksijen alımı ve tüketimi düşmekte, bu da oksijen açığını ortaya çıkartmaktadır. Böylece anaerobik metabolizmada ve laktat yapımındaki artma sonucu metabolik asidoz gelişir (2).

Hücre içinde ATP kullanımı asidik ortamda engellenir. Hücre membranındaki Na/K ATPaz enzimi çalışamaz hale gelir ve membran permeabilitesi bozulur. Hidrojen iyonunun membran lipitleri ile reaksiyonu sonucu serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşur (2,14,15).

### **2.1.3. Organ Düzeyinde Yanıt**

Hemorajik şoka bağlı volüm azalması sonrası gelişen organ bozuklukları bazılarında erken, bazılarında ise geç dönemde ortaya çıkar.

Kalp üzerinde; miyokarda iskemi gelişmesi sonucunda ventriküler extrasistoller ve aritmi oluşabilir (2).

Şokta karaciğer kanlanmasıyla konjesyon ve hipoksi meydana gelir. Hepatosit zedelenmesini yansıtan enzimlerin serum düzeyleri belirgin biçimde yükselebilir (8).

Böbreklerde sadece total renal kan akımındaki azalma değil ayrıca intrarenal korteksten medullaya kan akımında da bozukluk olur (16,17). Renin-anjiyotensin-aldosteron salınımı olur. Sonuçta dolaşımdaki intravasküler volüm açığını tamamlamak için glomerüler filtrasyonunda artma olur.

Özellikle hemorajik şokta gastrointestinal kanalda mukozal bariyer yıkımına bağlı olarak bakteriel translokasyon oluşur (2,10,18).

İmmün sistem tümüyle baskılanır, özellikle fagositoz yapan mekanizmalar durur. Baskılayıcı T-hücre aktivasyonu da gözlenebilir. Kan pıhtılaşma kaskadı önce subklinik düzeyde, ileri dönemlerde tümüyle bozulur. Sonuç olarak şok, geçici endotoksemiye neden olur. İmmün sistem etkilenmesi birkaç günü alır ve şok ile beraber ölüm gelişir (18,19).

Solunum sistemi üzerindeki etki ağır solunum yetmezliği olarak ortaya çıkabilir. Şokun resüsitasyonu sonrasında gelişen sıkıntılı solunum sendromundan PMNL'ler sorumludur. Bu organdaki esas hasar alveolar kapiller membrandır ve alveolokapiller yüzeydeki değişikliklerde proteinöz nitelikli sıvı intravasküler yüzeyden, interstisyuma ve sonuç olarak alveolar boşluğa sızar. PMNL'lerin endotel hücrelerine adezyonu sonrası açığa çıkan toksik maddeler sonucu endotelial tabakada hasar oluşur, kapiller permeabilite artar, alveolar ve interstisiyel ödem gelişir. Şoktaki akciğerlerde görülen bu işlevsel ve yapısal bozukluğun kliniği hafif bir tablodan ağır, geri döndürülemeyen solunum yetmezliğine kadar değişebilir. Bu hastalar diğer pulmoner yetmezliklerden farklı olarak hipokarbiktir. İnspirasyon havasında oksijen konsantrasyonu yükseltilmesine rağmen hipoksemi devam etmektedir ve pulmoner kompliansta azalma olmaktadır. Akciğer grafisinde yama tarzı infiltrasyonlar ortaya çıkar. Ayrıntılı incelendiğinde kalp debisinin, şant oranının ve ölü alan ventilasyonunun artmış olduğu görülür. Kardiyolojik nedenlere bağlı olmaksızın pulmoner ödem gelişir (2,10,18).

## **2.2. İskemi ve Reperfüzyon Hasarı**

İskemi, kan akımının yetersizliği nedeni ile hücrenin oksijen ve diğer metabolitlere olan ihtiyacının sağlanamaması ve oluşan atık ürünlerin uzaklaştırılmamasıdır (20).

Hücrenel yaşam ve sağlıklı hücre işlevleri, mitokondrilere gerekli substratlar ve oksijen sağlanması yolu ile gerçekleşmektedir. Yüksek fosfat bağlarını temin eden aerobik metabolizma, normal hücre fonksiyonu için gereklidir.

Dokulara oksijen sunumunda herhangi bir sebeple azalma olduğunda normal hücre fonksiyonları için gerekli olan oksidatif fosforilasyon kaybolur, adenozin trifosfat (ATP) yapımı düşer (20).

Bu durumda devreye giren anaerobik metabolizma ile laktik asid yapımında artışa bağlı olarak laktik asidoz gelişir. Asidoz normal enzim kinetiğini bozar, daha düşük enerjili bağlar yapılır ve hücre normal hemostazisi korumak için ihtiyacı olan enerjiden kaybeder. İskemik dokulardan reperfüzyon ile toksik metabolitler uzaklaştırılır. Ancak toksik metabolitlerin sistemik dolaşıma geçmesi metabolik asidoz gibi ciddi metabolik bir dizi olaya neden olabilir.

İ-R hasarının oluşumunda SOR, ksantin oksidaz, nötrofiller ve endotel hücreleri suçlanan faktörler arasındadır (21,22).

### **2.2.1. Ksantin Oksidaz Yolu**

Postiskemik dönemde, iskemik dokudaki serbest radikallerin en belirgin kaynağı ksantin oksidaz enzimidir. İskemi sırasında hücrenel ATP hipoksantin oluşturmak üzere indirgenir. Normal koşullarda hipoksantin, ksantin dehidrogenaz yardımıyla ksantine oksidize edilir. İskemi döneminde dokuda biriken ksantin oksidaz dokuya aniden sunulan oksijeni kullanarak hipoksantini ürik asite çevirirken bu reaksiyon esnasında bol miktarda SOR oluşumuna neden olur (23).

### **2.2.2. Nötrofiller (Polimorfonükleer Lökositler)**

İ-R sonrası endotel düzeyindeki patolojik değişiklikler membran permeabilitesinde artışa sebep olarak nötrofil infiltrasyonuna yol açar. Nötrofil

infiltrasyonu İ-R hasarının patofizyolojisinde önemli bir rol oynar. Nötrofiller yapılarında bulunan nikotin amid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) oksidazın aktive olmasıyla NADPH, nikotin amid adenin dinükleotid (NADP<sup>+</sup>)'ye, hidrojen (H<sup>+</sup>)'e ve hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)'e dönüşerek süperoksit anyonları üretir. Rees ve arkadaşları ksantin oksidaz aktivitesindeki hızlı artışın, nötrofil kemotaktik aktivitesini arttıran serbest radikal oluşumunu sağlayabileceğini ve hücre zarı hasarını başlatabileceğini savunmuşlardır (24). Nötrofiller etkilerini, sentezledikleri SOR ve proteolitik enzimler aracılığıyla gösterirler. SOR'nin en önemli kaynaklarından biri nötrofillerdir (8). Nötrofil post iskemik dokularda SOR doğuran potansiyel bir kaynaktır (25).

Nötrofillerin primer fonksiyonu fagositoz ve mikroorganizmaların sindirimi olmasına rağmen bu hücrelerden toksik ajanların sızıntısı veya sekresyonu, etrafındaki hücrelere zarar verir. Fagositik kaynaklı oksidanlar ototoksik, immunsupresif ve mutajenik etkiler gösterirler. İ-R sonucu akciğerlerde nötrofil birikimi olur. Bu nötrofillerden ortama salınan serbest radikaller akciğer hasarına neden olur.

Nötrofillerin İ-R hasarının patogenezindeki rolleri çeşitli araştırmacılar tarafından ortaya konmuştur (2,26). Şok ve iskeminin, lökositlerin yokluğunda daha iyi tolere edildiği bildirilmiştir. İ-R hasarının oluşumunda nötrofillerin endotel hücrelerine yapışması kritik öneme sahiptir. Böylece dış ortama kapalı bir mikro çevre oluşarak, SOR'nin inaktivasyonu engellenir. Endotel hasarı ve bunu takip eden bir dizi olay hücre ölümüne kadar ilerler. Adezyonu engellemek amacıyla, nötrofiller ve endotel hücreleri üzerindeki reseptörlere karşı üretilen antikorların verilmesinin İ-R hasarını azalttığı gösterilmiştir (26).

### **2.2.3. Endotelyal Faktörler**

İ-R sırasında meydana gelen hasarın derecesini belirleyen en önemli faktör esas olarak hasara uğrayan damar duvarını kaplayan endoteldir.

Endotelin hasarı sonucu endotel hücrelerini birbirine yapıştıran bağlar hasar görür ve hücreler arasından hücre dışı bölgeye kaçak olur. Endotelin prostasiklin salınımı bozulur ve reperfüzyon sırasında prostasiklin-tromboksan dengesi bozularak

trombosit agregasyonu artar. Mikrosirkülasyonda trombosit agregasyonları sebebiyle tıkanıklıklar oluşur ve doku içerisinde etkin kan dolaşımı sağlanamaz.

Hasara uğramış endotel kompleman sistemini aktive eder ve nötrofilleri hasar bölgesine çağırır. En önemli hasar ise nötrofillerin hasarlı bölgeye gelmesiyle oluşur. İ-R patofizyolojisinde endotel hücreleri ve lökositler arasındaki ilişki bir dizi olayı içerir.

- 1- Makrofajlar veya mast hücreleri İnterlökin 1 (IL-1) gibi sitokinleri salgılar.
- 2- İskemi sırasında endotelde ksantin dehidrogenaz ksantin oksidaza dönüşür ve SOR oluşur.
- 3- Endotelden Platelet Aktive Edici Faktör (PAF) salımını olur. PAF'ün stimülasyonu ile CD11/CD18 kompleksinin endotelial intraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1) ile etkileşmesi sonucu da adezyon oluşur.
- 4- Adezyon yapan lökositlerde SOR oluşur.
- 5- Lökositlerde myeloperoksidaz aracılığı ile hipoklorik asit oluşur.
- 6- Endotelden salınan P-selektin ve lökositlerden salınan L-selektin'in birbirleriyle ilişkileri sonucu "Rolling" de denen bir tür adezyon oluşur (27).

#### **2.2.4. Platelet Aktive Edici Faktör**

Fosfolipaz A<sub>2</sub>'nin etkisiyle endotel hücreleri tarafından membran fosfolipidlerinden üretilir. Çok çeşitli inflamatuvar reaksiyonda (Akut Respiratuvar Distres Sendromu (ARDS), akut pankreatit, inflamatuvar barsak hastalığı, glomeruler hasar vs.) etkin olduğu gözlenen bir substrattır. Trombositlerin şekil değişikliğine, agregasyonuna ve granül içeriğinin salınmasına yol açan oldukça kuvvetli bir ajandır. Ek olarak PAF kuvvetli bir nötrofil kemoataktan ve aktivatör bir maddedir ve tümör nekrozis faktör  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) üretiminde önemli bir rol oynar.

Dokuların reperfüzyonu sonucu lökositlerin aktivasyonuna, adezyon ve aynı zamanda vasküler permeabilitede artışa yol açar. Pek çok çalışma PAF'ün in vitro ve

in vivo ortamda lökositlerin mikrovasküler endotele adezyonunu arttırdığını göstermiştir. PAF'ın, reperfüzyon sonucu gerçekleşen kemotaksisin bir düzenleyicisi olduğu düşünülmektedir (28).

Köpeklerde İ-R modelinde reperfüzyon sonrası ilk 5 dakikada PAF konsantrasyonunun dramatik olarak arttığı ve nötrofil infiltrasyonunu arttırarak postiskemik venüllerde adezyona sebep oldukları görülmüştür (29).

### **2.2.5. Komplemanlar**

Kompleman sistemi konağın savunmasında ve inflamatuvar olayların düzenlenmesinde önemli rolleri olan plazma proteinlerinden oluşur. Karaciğerde sentezlenerek plazmaya salınan bu kimyasal mediyatörler opsonizasyon (C3b), adezyon, viral nötralizasyon, anafilaktik ve kemotaktik (C3a ve C5a) etkilere sahiptir.

Travma ve şok gibi etkenlerle komplemanların arka arkaya aktivasyonu, anaflatoksin C3a ve C5a'nın üretimine yol açar. Nötrofiller üzerindeki etkileri ise kemotaksis, endotele adezyonun artışı, SOR'nin üretim ve salınmasını sağlamaktır (28).

### **2.2.6. Sitokinler**

Akciğerlerde iskemik doku hasarının patolojik tablosu inflamatuvar yanıt ile ortak özellikler göstermektedir. İskemiye bağlı olarak akciğerlerde proinflamatuvar sitokinlerin üretimi artmakta, mononükleer ve PMNL aktivasyonu ve dokuya invazyonu görülmektedir.

Akciğer inflamasyon yanıtında IL-1 ve IL-6 en çok üzerinde durulan sitokinlerdir. İ-R hasarı sırasında sitokin üretimi ile makrofaj, lenfosit ve nötrofil aktivasyonu paralel olarak gelişmektedir. İskemi, makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin salınımını tetiklemekte ve erken reperfüzyon hasarı oluşturmaktadır. IL-8, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$  gibi sitokinler ise geç dönemde nötrofil ve T- lenfosit aktivasyonuna yol açmakta ve beraberinde geç dönem reperfüzyon hasarı oluşturmaktadır. Bu ajanlara karşı antagonistler kullanılarak, IL-1'in ve TNF- $\alpha$ 'nın

vasküler yaralanmaya katkıda buldukları ve endotel adezyon moleküllerini arttırdıkları gösterilmiştir (28,30).

İnflamatuar süreçte önemli rol oynayan mediyatörler ve fonksiyonları Tablo 1’de gösterilmiştir.

**Tablo 1: İnflamatuar Mediyatörler ve Fonksiyonları**

İnflamatuar Mediyatörler	Fonksiyonları
TNF- $\alpha$	Pro-inflamatuar, Nötrofil aktivasyonu
IL-1	Pro-inflamatuar, Nötrofil aktivasyonu
IL-6	Lökosit büyüme ve aktivasyonu
IL-10	Anti-inflamatuar, Pro-inflamatuar sitokin İnhibisyonu
G-CSF	Hematolojik büyüme faktörü
PAF	Trombosit ve nötrofil aktivasyonu
ICAM-1	Nötrofil adezyonu
C5a	Lökosit adezyon ve agregasyonu
Kemokinler	Lökosit aktivasyonu ve agregasyonu
Reaktif oksijen ve nitrojen	Damar tonus düzenleyici, Antimikrobiyal

Çalışmamızda hemorajik şok sonrası akciğer hasarının oluşma sürecinde önemli olduğu bildirilen sitokinlerden IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ ’yı inceledik.

### 2.2.6.1. İnterlökin 1

Makrofajlardan ve endotelial hücrelerden salınır. IL-1’in etkileri TNF- $\alpha$ ’ya yakındır ve benzer fizyolojik ve metabolik değişikliklere neden olur. Travma sonrası IL-1 ve TNF- $\alpha$  düzeyleri yükseldiğinde sitokinler bağımsız olarak bir hemodinamik dekompanzasyona neden olurlar. Düşük dozlarda ise yalnızca eşzamanlı olarak verildiklerinde aynı yanıt oluştururlar. Bu gözlemler TNF- $\alpha$  ve IL-1’in proinflamatuar yanıt oluşturmadaki sinerjistik etkilerini desteklemektedir (31).

### 2.2.6.2. İnterlökin 6

Akut travma, stres, hemorajik şok sırasında IL-6 kan düzeyi yükseldiğinden genellikle sistemik inflammatuar yanıt veya postoperatif morbidite indikatörü olarak

kullanılır. Yine IL-6 düzeylerinin şok durumundaki mortalite ile korele olarak arttığı gösterilmiştir. Hemorajik şok döngüsünde IL-6 akciğer, karaciğer ve barsak hasarı ile ilişkilendirilmektedir (31-33).

### **2.2.6.3. İnterlökin 10**

Antiinflamatuvar bir sitokindir. İki major aktivitesi olup makrofajlar tarafından TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-12 sentezini inhibe eder ve T hücre aktivasyonunda makrofajların yardımcı rollerini süprese eder (28,34). Akciğer hasarı olan hastalarda bronkoalveolar lavaj incelendiğinde IL-10 seviyesinde düşüklük ve TNF- $\alpha$  seviyesinde artış olduğunu tespit eden çalışmalar mevcuttur (35).

### **2.2.6.4. Tümör Nekrozis Faktör $\alpha$**

Travma veya infeksiyonlar sonucu oluşan inflamatuvar yanıt kompleks bir proinflamatuvar sitokin döngüsünün başlamasına neden olur. Bu sitokinler arasında TNF- $\alpha$  konakçı yanıtın oluşmasına yol açan ilk ve en potent mediyatörlerden biridir. TNF- $\alpha$  sentezinin kaynağı, periton ve splanik dokularda çok bulunan monositler, makrofajlar ve T hücreleridir. Akut travmaya yanıt olarak TNF- $\alpha$  salınımı hızlı ve kısa sürelidir. Endotoksin uyarısı ile akut inflamatuvar yanıt gelişimini taklit eden çalışmalarda TNF- $\alpha$ 'nın monofazik bir eğri izlediği ve 90. dakikada pik yapıp 4 saat içinde ölçülemeyecek düzeye indiği saptanmıştır. Yarı ömrü 15-18 dakika olmasına rağmen TNF- $\alpha$ 'nın kısa süreli ortamda bulunması bile önemli metabolik ve hemodinamik değişikliklerin gelişmesine ve döngünün ileri kısmındaki sitokinlerin aktive olmasına neden olur. Deneysel septik şok modellerinde TNF- $\alpha$ 'nın yükselmesinin şok gelişimine ve hipoperfüzyona neden olduğu, mortalite ile korele olarak arttığı bildirilmiştir (36,37).

TNF- $\alpha$ 'nın diğer fonksiyonları arasında; koagülasyonun aktivasyonu, prostaglandin E2, PAF, glukokortikoidler ve eikozanoidlerin salınımının arttırılması sayılabilir.



### 2.3. Serbest Oksijen Radikalleri

#### 2.3.1. Serbest Radikallerin Kaynakları

SOR birçok fizyopatolojik durumda mikrovasküler düzeyde parankimal hücre hasarı sonrası ortaya çıkan yüksek reaktif özellikleri olan moleküllerdir (38,39).

Normalde serbest radikallerin küçük bir kısmı mitokondrial elektron transport zincirindeki sızıntı yerlerinden fizyolojik olarak üretilirler. Patolojik durumlarda serbest radikaller ksantin oksidaz metabolizmasından, aktif nötrofillerden, katekolamin oksidasyonundan, endotelial hücrelerden ve prostaglandinlerden derive olurlar. Yapılan çalışmalarda hemorajik şok süresince hipoksik kalan dokuların reperfüzyonu ile SOR'nin dolaşıma geçtiği gösterilmiştir (40).

Süperoksit radikali, hidroksil radikali, peroksil radikali, alkoksil radikali, lipid peroksidasyonunu başlatan başlıca radikallerdir. Pek çok çalışma SOR'ni İ-R hasarının reperfüzyon komponentinin mediyatörleri olarak göstermiştir. Reperfüzyondan 2-5 dakika sonra yüksek bir oksidatif formasyon oluşur ve ksantin oksidaz serbest radikal yapımını katalizler. Bu enzim normal olarak ksantin dehidrogenaz formunda bulunur ve  $NAD^+$  kullanarak hipoksantinini ksantine dönüşümünü katalize eder. Ksantin oksidaz hipoksantini ksantine çevirmek için moleküler oksijen kullanır ve sonuçta süperoksit radikali ( $O_2^-$ ) ortaya çıkar (41).

Reperfüzyon sırasında ortaya çıkan serbest radikaller lipid ve nükleik asitlerin peroksidasyonuna, sulfidril gruplarının oksidizasyonuna, sitokrom enzimlerinin inaktivasyonuna, transport proteinlerin yapılarında değişikliklerle doku hasarına neden olurlar. Hasara uğrayan veya iskemik kalan bölgeye aktif granülositlerin gelmesi önemli bir reaktif oksijen radikali kaynağıdır (42).

#### 2.3.2. Serbest Radikallerin Hücre Hasarındaki Roller

Oksijenin redüksiyonu ve enzimatik oksidasyonu sırasında negatif yüklü bir ara ürün olan süperoksit radikali meydana gelir. Hücrede en çok lipid molekülleri ile

reaksiyona girer (43). Normal şartlarda metabolik reaksiyonlarda kullanılan oksijenin sadece % 5-10'u kuvvetli toksik ürünlere dönüşür.

Aerob organizmalar intrasellüler ve ekstrasellüler antioksidan savunma sistemleri ile bu toksik metabolitleri etkisiz hale getirerek kendilerini korur ve zararı minimum seviyede tutarlar. Antioksidan savunma sisteminin gücünün zayıfladığı ya da SOR üretiminin bu savunma sisteminin gücünü aştığı hallerde hücreler zarar görür (44).

Oksijen radikalleri çok kısa sürede yıkıldıkları halde bu süre içinde enzimler ile etkin olarak detoksifiye edilmezlerse nükleik asitler, proteinler, lipitler, karbonhidratlar ve glikoproteinleri içine alan bütün biyolojik materyal ile reaksiyona girerek reversibl ya da irreversibl değişikliklere yol açarlar.

SOR vücutta nötrofil, monosit, makrofaj, eozinofil gibi inflamatuvar hücrelerden, hücrelerin yüzeylerinde bulunan redükte NADPH oksidaz sistemi ile yapılmaktadır. Büyük miktardaki SOR yapımının amacı yabancı mikroorganizmaların ortadan kaldırılmasıdır. Kronik inflamasyonda bu normal koruyucu mekanizma hasara neden olabilir (45).

SOR'lerinin hücredeki başlıca zararlı etkileri; proteinlerin zarar görmesi, enzimlerin inaktivasyonu, membran ve serum lipitlerinde peroksidasyon, hücre yüzeyindeki reseptörlerde değişiklik, Na-K-ATPaz, Ca-ATPaz gibi hücre iyon transport proteinlerinin tahrip olması, deoksiribonükleik asit (DNA)'nın zarar görmesi, bağ dokusu harabiyeti olarak bildirilmektedir.

**i-) Lipid Peroksidasyonu:** SOR'lerin lipidler üzerindeki en önemli etkileri lipid peroksidasyonunu uyarmasıdır. Lipid peroksidasyonu SOR'ler tarafından başlatılan ve hücre zarlarında bulunan çok doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan kimyasal bir olaydır.

Hücre zarlarında lipid peroksidasyonu sonucu zar transport sistemi etkilenmekte, hücre içi ve dışı iyon dengeleri bozulmaktadır. Bunun sonucunda hücre içi kalsiyum ( $Ca^{++}$ ) konsantrasyonu artmakta ve  $Ca^{++}$  bağımlı proteazlar aktive olmaktadır. Bu olaylar hücre hasarında önemli role sahiptir. Nitekim hücrede aşırı  $Ca^{++}$  birikmesinin sitotoksik olduğu gösterilmiştir. Öte yandan lipid peroksidasyonunun son ürünü olan aldehitler de sitotoksik özelliğe sahiptirler.

**ii-) Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu:** SOR'ler aminoasit yan zincirlerinin oksidasyonuna neden olarak protein-protein bağlarının oluşmasına yol açarlar. Ayrıca protein ana zincirini okside ederek protein parçalanmasına neden olurlar. Böylece hücrede fonksiyonel öneme sahip enzimlerde bozulmalar ortaya çıkmaktadır.

**iii-) DNA Hasarı:** İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyon, hücre ölümü ve karsinogenezise yol açabilirler.

Normal metabolizma sırasında, hiperoksi ve çevresel faktörler örneğin fotokimyasal hava kirliliği etkisiyle açığa çıkmış olan serbest radikallerin yol açtığı hücre ölümüne ve mutasyonlara DNA'nın katıldığı da ileri sürülmektedir (46).

#### **2.4. Akciğer İskemi-Reperfüzyon Hasarı**

Hemorajik şokun resüsitasyonu sonucunda İ-R döngüsü travma hastalarında inflamatuvar uyarıya karşı abartılmış bir cevabın ortaya çıkmasına neden olup, ikincil organ hasarları oluşturmaktadır.

Damar duvarını kaplayan endotel, akciğer parankimini oluşturan düz kas hücreleri ve pnömositler iskemiden etkilenirler.

Reperfüzyon sırasında, endotelden salınan Nitrik Oksit (NO)'in azalmasının büyük önemi vardır. NO nötrofillerin yapışmasını (CD11b ve CD18 üzerinden), birikmesini ve içerdiklerini boşaltmalarını inhibe eder. Ayrıca hem trombosit agregasyonunu engeller, hem de vazodilatasyon yaparak vasküler dengenin korunmasını sağlar. Azalan NO salınımı ve nötrofillerden salgılanan oksidan maddelerin NO'in etkilerini azaltması sonucu doku hasarı artar (47-49).

Oksidatif stres SOR oluşması ile karakterize bir durumdur. Bu türevler  $O_2^-$ , Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ) ve Hidroksil ( $OH^-$ ) radikalidir. Bunlar kararsız ürünler olup hücre permeabilitesinin artmasından hücre zarının erimesine kadar çeşitli derecelerde lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır. Akciğerde birçok hücre tipi (endotel hücreleri, tip II pnömositler, klara hücreleri) SOR oluşturabilmektedir (49).

Akciğerlerde iki ana mekanizma SOR oluşumuna katkı sağlamaktadır. Bu mekanizmalardan biri reperfüzyon ya da solunum sırasında ortama oksijen yeniden sunulması ile  $O_2^-$  oluşumuna yol açan hipoksantin birikimidir. Anoksi sırasında ksantin dehidrogenaz enzimi, ksantin oksidaz formuna dönüşmektedir. Enzimin oksidaz formu, ortamdaki oksijenin artışı ile hipoksantini  $O_2^-$  'ye dönüştürmektedir.

Diğer mekanizma ise iskemi ile aktive olan ve oksijenin  $O_2^-$  ve  $H_2O_2$ 'ye dönüşümünü katalizleyen NADPH oksidaz sistemidir (49). Bu sistem yoğunlukla nötrofillerin, monositlerin ve makrofajların yüzey membranlarında bulunmaktadır.

Akut akciğer hasarında İ-R hasarı sonucunda yukarıda anlatılan olaylar serisi sonucunda proinflamatuvar sitokinlerin üretimi artmakta, mononükleer ve PMNL aktivasyonu ve dokuya invazyonu görülmektedir. PMNL'lerin endotel hücrelerine adezyonu sonrası açığa çıkan toksik maddeler endotelial tabakada hasar oluşturur, kapiller permeabilite artar, alveolar ve interstisyel ödem gelişir.

Bu patofizyolojik olaylar döngüsünün radyolojiye yansımaları ise direk grafilerde bilateral yaygın infiltrasyonların gözlenmesi şeklindedir.

## 2.5. Antioksidanlar

Antioksidanlar, SOR oluşumunu sınırlandırma, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasını sağlama, oluşan radikalleri ortadan kaldırma ve hasarlı molekülleri tamir etme ve temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini gösterirler.

Antioksidan sistem grubuna giren enzimler; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (KAT), glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon transferazdır. Suda çözünen radikal tutucular; glutatyon (GSH), vitamin C, ürik asit, glikoz ve sisteindir. Yağda çözünen radikal tutucular; vitamin E,  $\beta$ - karoten, bilirubin, ubikinol ve flavanoidlerdir. Metal iyonlarını bağlayan proteinler; ferritin, transferin, haptoglobin, seruloplazmin ve albumindir. Ayrıca propranolol, kalsiyum kanal blokerleri ve kaptopril'in deneysel olarak değişik sitoprotektif etkileri gösterilmiştir (50).

### **2.5.1. Antioksidan Enzimler**

#### **2.5.1.1. Süperoksit Dismutaz**

SOD, in vivo olarak dokuları SOR'lere, özellikle  $O_2^{\cdot-}$ 'ne karşı koruyan endojen bir enzimdir.

$O_2^{\cdot-}$ 'i metabolize etme yeteneğine sahip sirkulatuar proteinler, seruloplazmin ve ekstrasellüler SOD'dır. Bununla birlikte bu sirkulatuar ajanların temizleyici etkisi belirgin değildir. Çünkü bu proteinlerin plazmadaki aktiviteleri oldukça azdır (51).

#### **2.5.1.2. Katalaz**

KAT vücutta doğal olarak oluşan bir metalloproteindir. In vivo olarak SOD ile kombine bir şekilde etki eder.  $H_2O_2$  peroksizomlarda katalaz ile su ve oksijene indirgenir. KAT'ın canlı organizmanın eritrosit, karaciğer, böbrek, kemik iliği ve çeşitli dokularında da bulunur.

#### **2.5.1.3. Glutasyon**

Birçok hücrede bulunabilen GSH tripeptid (gama glutamil sisteinil glisin) yapıdadır. Gama-glutamil kısmı hücre içi stabiliteyi ve peptidazlara direnci sağlamaktadır. GSH hücre zarında aminoasitlerin taşınmasında rol alır ve koenzim olarak enzim yapısına girer, toksik maddelerin etkilerinin ortadan kaldırılmasında rol oynar (52).

#### **2.5.1.4. Glutasyon Peroksidaz**

GSH peroksidaz enzimi hücreleri organik hidroperoksitler ve  $H_2O_2$  tarafından oluşturulan oksidatif tahribata karşı GSH'ı kullanarak korur (53). GSH, sahip olduğu sülfhidril grubu ile oksidatif hasar ve toksik maddelere karşı hücreleri korur.

### **2.5.2. Serbest Radikal Üretiminin İnhibisyonu**

SOR hasarını azaltmak için kullanılan diğer bir yaklaşım SOR üretiminde rol oynayan enzimlerin inhibisyonudur. Ksantin oksidaz inhibitörü allopurinol

hipoksantinin yapısal bir analogudur. Allopurinol ksantin oksidazı kompetitif olarak inhibe ederek  $O_2^-$  anyonunun üretimini azaltır (50).

## 2.6. Granülosit Koloni Stimulan Faktör

G-CSF granülotik progenitor hücrelerin diferansiyasyonunu ve büyümesini regüle eden ve çeşitli türleri olan bir glikoproteindir (54).

G-CSF ve eritropoetin gibi hematopoetik sitokinler, kemik iliği kök hücrelerini mobilize ederek hematopoetik progenitor hücrelerin diferansiyasyonunu ve gelişimini sağlar. G-CSF reseptörleri kemik iliğindeki prekürsör hücrelerde bulunur ve G-CSF stimülasyonuna yanıt olarak proliferasyonu tetikleyerek olgun granülositlere diferansiyasyonu sağlar (55).

Aktive monositlerden salınan TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin salgılanması, G-CSF'ün üretimini artırır (56).

G-CSF, nötrofil oluşumu ve fonksiyonunun düzenlenmesinde fizyolojik olarak önemli rol oynar. Periferik nötrofil sayısında ve migrasyon işlevinde artış sağlar. Kemik iliği nötrofil depo havuzundan salınımı uyardığı, kemotaksis, oksidatif metabolizma ve fagositozu arttırdığı gösterilmiştir (57).

Rekombinant G-CSF, Escheria Koli'de sentezlenmiş ve Filgrastim adı verilmiştir. Filgrastim'in yapısı doğal glikoproteinden çok az fark göstermektedir.

Yapılan invitro çalışmalarda G-CSF'nin, polimorf nüveli lökosit üretimi için ana faktör olduğu, olgun nötrofil aktivitesini artırdığı, kemotaksis, fagositoz, degranülasyon, proteaz salınımı ve SOR üretimini artırdığı gösterilmiştir.

Deneysel hemorajik şok modellerinde rat akciğerinde G-CSF mRNA gösterilmiştir (58).

İntratrakeal G-CSF uygulamasının, rat akciğerinde akut enfeksiyonu artırdığı, pulmoner ödem ve akciğer fonksiyonlarını bozduğu bildirilmiştir. Akciğerin histopatolojik incelemesinde interstisyel ödem, alveolar ödem ve PMNL infiltrasyonu gösterilmiştir.

G-CSF, lökosit salınımını ve aktivasyonunu artırarak lökosit aracılı akciğer hasarı oluşturmaktadır. PMNL'in endotele adezyonunu ve kemotaksisi artırır (59,60).

G-CSF nötrofil sayısını ve aktivitesini artırdığı için immün savunmada önemli rol oynar. Kanser hastalarında nötropeni nedeniyle G-CSF tedavisi sonrası akciğer toksisitesi ve sağlıklı kişilerde immunoterapi sonrası akut akciğer hasarı bildirilmiştir (61).

## 2.7. Beta-Glukan

Glukan *Saccharomyces cerevisiae* isimli mantarın hücre duvarından izole edilen doğal polisakkarit yapısında bir maddedir. Glukan, glikozidik bağ içeren ve  $\beta$  (1-3) adı verilen lineer bir zincir ve sonrasında  $\beta$  (1-6) adı verilen dallanmalar gösterir (62).

$\beta$ -glukan vücuda dışarıdan daha çok oral yolla alınan bir madde olup mide asidine dirençlidir. Bu nedenle mideden formasyona uğramadan geçer. Ayrıca barsakta bu maddeyi glikoz ya da d-glikoza parçalayarak barsak duvarından absorbe edilmesine olanak verecek enzim ( $\beta$ -(1-3) Glukanaz) bulunmadığından emilemez. Diğer taraftan barsak duvarında bulunan makrofajlar  $\beta$ -Glukan partiküllerini özgün reseptörleriyle tutarlar. Bu hücreler hemen aktive olur. Doğal antijen sunucu fonksiyonlarının bir parçası olarak lenf nodüllerine yani barsakta peyer plaklarına geri giderler. Sitokinleri serbest bırakırlar ve sistemik immün aktivasyonu indüklerler. Bu tanımlanan fagositik taşınma adı verilen bu mekanizma glukanın oral yoldan daha etkili olmasına sebep olur (63).

Glukan nonspesifik bir immünstimulan olmasına rağmen potent etkisi makrofajlar üzerindedir. Yapılan çalışmalarda makrofaj hücre kültürlerinde glukan verildiğinde, makrofajlar daha büyük hale gelmekte, aderan yüzeylerinde artış olmakta, fagositik, mikrobisidal, kemotaktik aktivitelerinde artış görülmekte ve olası antitümör aktiviteleri de artmaktadır.

Glukan organizmadaki görevlerini bitirdiğinde glikoza metabolize olmaktadır. Bu da diğer makrofaj aktivatörlerine göre toksite avantajıdır (62).

Beta-glukanın en önemli biyolojik aktivitesi, immün sistemi düzenleme yeteneğidir. Çünkü onun diğer etkileri, bu aktivitesine bağlıdır.  $\beta$ -glukanın immünoregülatör aktiviteleri, immün sistem kontrolünde veya makrofaj fagositozunu

ayarlamada yer alan sitokinlerin makrofajlardan salınımını uyarma veya engelleme yeteneğiyle ilişkilidir (64).

İn vitro çalışmalarda büyük moleküler ağırlıklı veya partiküllü beta-glukanların lökositlerin fagositik, sitotoksik aktivitelerini arttırarak reaktif oksijen ve nitrojen aracılı antimikrobiyal aktivitelerini arttırdığı ve direk olarak lökositleri aktif hale getirdiği ve ayrıca IL-8, IL-1, IL-6 gibi sitokinleri stimüle ettikleri gösterilmiştir (65).

Tüm dünyada glukanın çeşitli deney hayvanlarına intravenöz verilmesi ile retikuloendotelyal sistemde fagositik proliferatif aktivitesinde belirgin bir artışa sebep olduğu görülmüştür. Makrofaj sisteminin proliferatif cevabı ile bağlantılı olarak büyük miktarlarda makrofaj elementleri karaciğer, dalak gibi organlarda görülür. Makrofajlar immün cevabın başlaması ve sürdürülmesinde önemli rol alırlar (66).

Daha sonraki çalışmalar makrofajların üzerinde glukana için reseptörler olduğunu ortaya koymuş ve glukana bu reseptörlere bağlanarak makrofaj fonksiyonlarını modüle ettiğini düşündürmüştür (67).

Makrofajlar üzerindeki  $\beta$ -glukan reseptörleri yıllardır tartışmalı bir konu olmuş, soluble glukana CR3'e (kompleman reseptör 3) bağlandığını ve bu bağlanmanın reseptörün lektin bölgesinden olduğunu ve aktivasyon için glukana ve komplemana ihtiyaç duyulduğu düşünülmüştür. Ama son yıllarda Brown ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda  $\beta$ -glukanın ana reseptörünün Dektin-1 olduğu bulunmuştur (68).

Beta-glukanların etkin bir serbest radikal azaltıcı olarak görev yapabileceğini ortaya konulmuştur (69). Beta-1,3-glukanın antioksidan etkisinin saptandığı 'serbest radikal süpürücü etkisi' deneyleri farklı organizmalarda tekrarlanmıştır (70). Radyasyon uygulaması sırasında ve sonrasında kan makrofajlarını serbest radikal etkisinden koruyabilmiştir.

Deneyisel çalışmalarda Beta-glukanın IL-6 üzerinde salınımı artırıcı etkileri olduğu bildirilmiştir. Masih ve ark. (71) beta glukana türevlerinin TNF üzerinde baskılayıcı, IL-1, IL-6 ve IL-10 üzerinde salınımı artırıcı etkisi olduğunu göstermişlerdir.



### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Araştırmanın Tipi

Araştırma deneysel araştırma olarak planlandı.

#### 3.2. Deney Grubunun Seçimi

Çalışmada 200-300 gr. ağırlığında Wistar Albino cinsi toplam 40 adet erkek sıçan kullanıldı. Denekler, çalışma öncesinde oda ısısında serbest su ve yem verilerek saklandı. Çalışmada 40 erişkin rat randomize olarak 4 gruba ayrıldı (n=10). Denekler Süleyman Demirel Üniversitesi (SDÜ) Tıp Fakültesi Deneysel Çalışma ve Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edildi. Deney Hayvanları Araştırma Etik Kurulu tarafından onay alındıktan sonra çalışmaya başlandı.

#### 3.3. Araştırmanın Uygulanması ve Verilerin Toplanması

Operasyon öncesi ve sonrası tüm sıçanlar standart yem ve su ile beslendiler. Ratlardaki işlemler genel anestezi altında gerçekleştirildi. Genel anestezi için, intraperitoneal 90 mg/kg ketamin hidroklorür (Ketalar) ve 10 mg/kg xylazin (Rompun) kullanıldı.

Çalışma grupları sırasıyla şöyle oluşturuldu;

**Grup I** (Kontrol Grubu) (n=10): Arteriyel monitörizasyon + Kan örneği + 1 saat sonra sıvı resüsitasyonu + 24 saat sonra kan ve akciğer doku örneği,

**Grup II** (Hemorajik Şok Grubu) (n=10): Arteriyel monitörizasyon + Kan örneği + Kontrollü Hemorajik şok + 1 saat sonra sıvı resüsitasyonu + 24 saat sonra kan ve akciğer doku örneği,

**Grup III** (Hemorajik şok + G-CSF Grubu) (n=10): Arteriyel monitörizasyon + Kan örneği + Kontrollü Hemorajik Şok + 1 saat sonra sıvı resüsitasyonu ve G-CSF verilmesi + 24 saat sonra kan ve akciğer doku örneği,

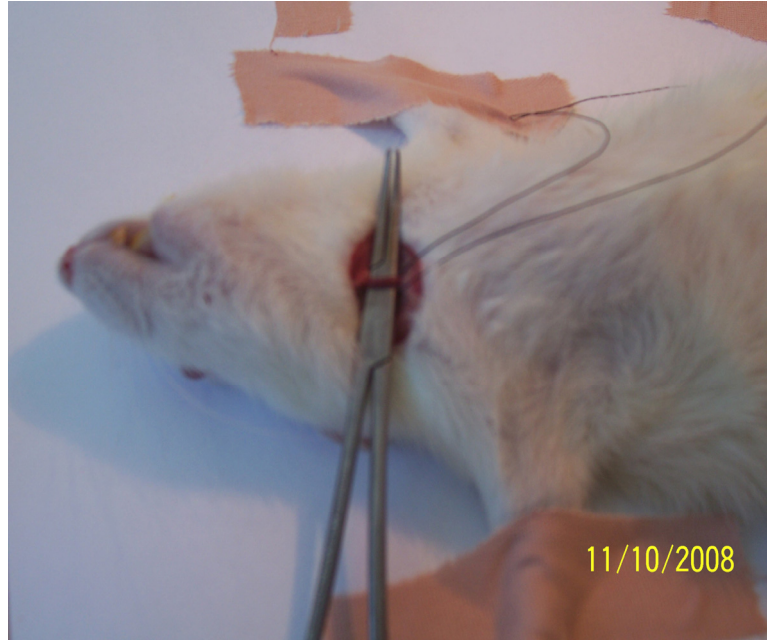
**Grup IV** (Hemorajik şok + Beta-glukan Grubu) (n=10): Arteriyel monitörizasyon + Kan örneği + Kontrollü Hemorajik Şok + 1 saat sonra sıvı resüsitasyonu ve Beta-glukan verilmesi + 24 saat sonra kan ve akciğer doku örneği.

Grup I haricindeki deneklere, servikal bölgeden yapılacak transvers insizyon için uygun pozisyon verildikten sonra, servikal transvers kesi uygulandı (Resim 1).



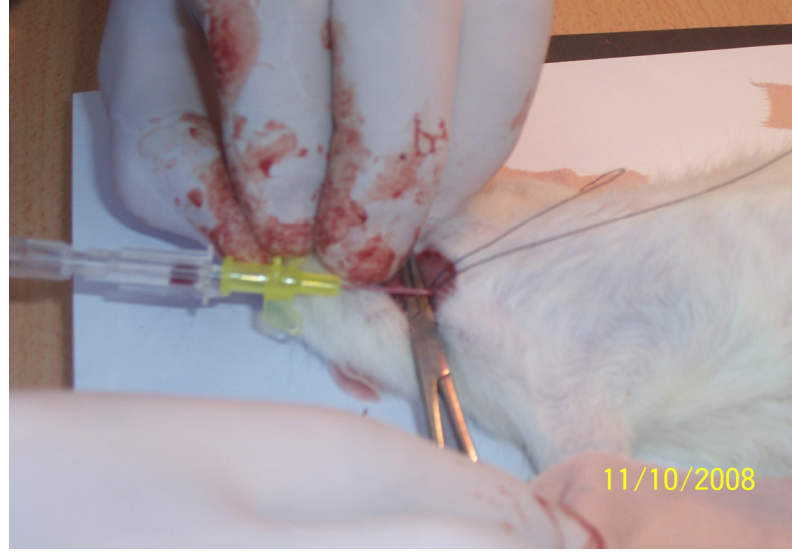
**Resim 1: Ratlara Servikal Transvers Kesi Uygulaması**

Servikal bölgede diseksiyonla arteria carotis communis izole edildi ve 4/0 ipekle askıya alındı (Resim 2).



**Resim 2: Servikal Bölgede Arteria Carotis Communis İzole Edilmesi ve 4/0 İpekle Askıya Alınması**

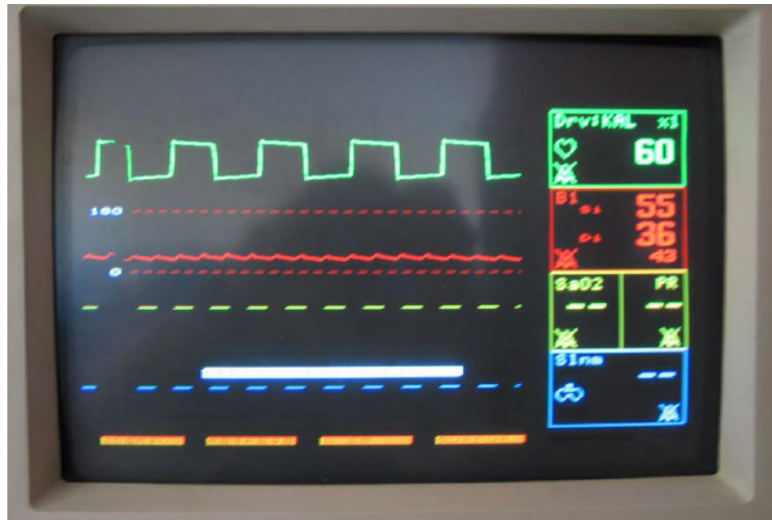
Arteriyel kanülizasyon 24 G intraket ile gerçekleştirildi (Resim 3).



**Resim 3: 24 G İntraket ile Arteriyel Kanülizasyon uygulaması**

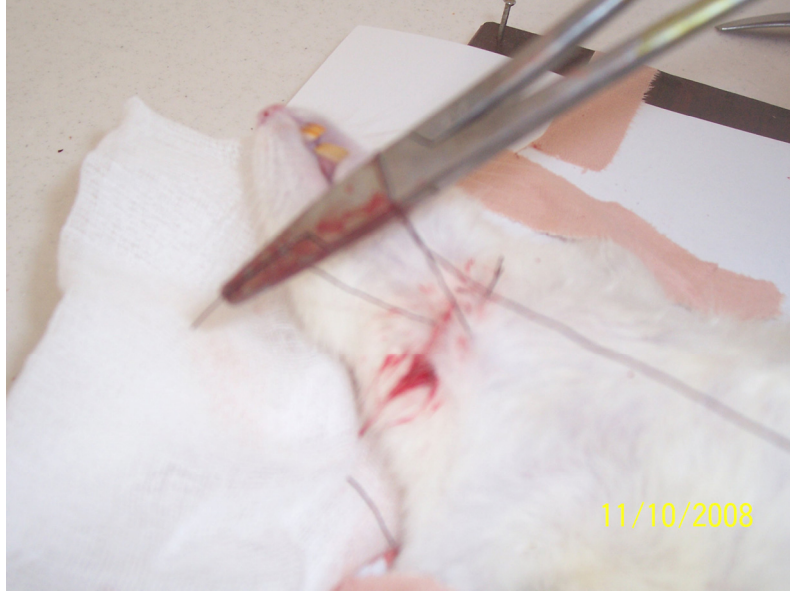
Arteriyel monitörizasyon Bıçakçılar marka transducer ile sağlandı ve arteriyel kan basıncı monitörizasyonu Artema marka monitör ile yapıldı.

Grup I'de şok oluşturulmadı, kan örneği alındı. 1 saat sonra, alınan kanın iki katı miktarda ringer laktat intraperitoneal yol ile verilerek sıvı resüsitasyonu yapıldı. Grup II'de deneklerin arteriyel kan basınçları izlenerek ortalama arteriyel basınç değerleri 40 mmHg düzeyinde tutulacak şekilde arteriyel yolla kan alınarak kontrollü hemorajik şok oluşturuldu (Resim 4).



**Resim 4: Hemorajik Şok Yapılan Ratlarda 40 mmhg Düzeyinde Ortalama Arteriyel Basınç Değerleri**

Kan örneği alındıktan sonra insizyon yeri suture edildi (Resim 5).



**Resim 5: Kan Örnekleri Alındıktan Sonra İnsizyon Yerinin Sütürasyonu**

Hemorajik şoktan 1 saat sonra alınan kanın iki katı miktarda intraperitoneal ringer laktat ile resüsitasyon yapıldı (Resim 6).



**Resim 6: İntraperitoneal Ringer Laktat ile Resüsitasyon**

Grup III'de deneklerin arteriyel kan basınçları izlenerek ortalama arteriyel basınç değerleri 40 mmHg düzeyinde tutulacak şekilde arteriyel yoldan kan alınarak kontrollü hemorajik şok oluşturuldu. Kan örneği alınarak biyokimyasal inceleme için saklandı. Hemorajik şoktan 1 saat sonra alınan kanın iki katı miktarda intraperitoneal ringer laktat ile resüsitasyon yapıldı ve birlikte intraperitoneal G-CSF verildi. G-CSF olarak, bir rekombinan-metiyonin insan granülosit koloni stimulan faktörü (r-metHuG-CSF) olan filgrastim (Neupogen(r)-ROCHE)'in 300 µg/mL'lik flakonları kullanıldı. % 5 dekstroz sudaki solüsyonu ile 30 µg/mL olacak şekilde dilüe edilen preparat, 3 µg/kg dozda intraperitoneal yolla uygulandı.

Grup IV'de deneklerin arteriyel kan basınçları izlenerek ortalama arteriyel basınç değerleri 40 mmHg düzeyinde tutulacak şekilde arteriyel yolla kan alınarak kontrollü hemorajik şok oluşturuldu. Kan örneği alınarak biyokimyasal inceleme için saklandı. Hemorajik şoktan 1 saat sonra alınan kanın iki katı miktarda intraperitoneal ringer laktat ile resüsitasyon yapıldı ve birlikte intraperitoneal beta-glukan (İmmuneks(r) 10 mg kapsül- Mustafa Nevzat İlaç San.) verildi. SDÜ Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı ile görüşülerek kapsül formunda olan ilaç intraperitoneal uygulama için mikropartiküler form haline çözüldü. Beta-glukan 4 mg/kg dozunda intraperitoneal olarak uygulandı.

Akciğer dokusunda meydana gelen biyokimyasal değişikliklerin değerlendirilmesi için hemorajik şok sonrası 24. saatte kan örnekleri Etilen Dinitrilotetra Asetik asit'li tüplere alındı. Serumda IL-1, IL-6, IL-10, TNF-α çalışıldı.

Akciğer dokusunda meydana gelen histopatolojik değişikliklerin incelenmesi amacıyla median sternotomi ile toraks açılarak her iki akciğer rezeke edildi.

### **3.4. IL-1, IL-6, IL-10, TNF-α Ölçümü İçin Kan Örneklerinin Hazırlanması**

Etilen Dinitrilotetra Asetik asit'li tüplere alınan kan örnekleri, serum gerçekleştirilmesi için 10 dakika süre ile 5000 devirde santrifüj edildi. Serum örnekleri ölçüm yapıncaya kadar -80°C'de derin dondurucuda bekletildi.

Parametre ölçümleri SDÜ Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda yapıldı.

Serumda IL-1 (ELISA, BioSource Catalog No. KRC0011, Nivelles, Belgium), IL-6 (ELISA, BioSource Catalog No.KRC0061, Nivelles, Belgium), IL-10 (ELISA, BioSource Catalog No.KRC0101, Nivelles, Belgium), TNF- $\alpha$  (ELISA, BioSource Europe S.A. Catalog No. KRC 3014, Nivelles, Belgium) tayinleri için uygun rat kitleri kullanılarak talimatlara uygun olarak ölçümler yapıldı.

Laboratuvarında serum örnekleri, sırayla, IL-10, IL-6, IL-1, TNF- $\alpha$  kitleri ile değerlendirildi.

### **3.5. Akciğer Doku Örneklerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi**

Akciğer dokusunda meydana gelen histopatolojik değişikliklerin incelenmesi amacıyla median sternotomi ile toraks açılarak her iki akciğer rezeke edildi. Akciğer doku örnekleri alınarak histolojik inceleme için % 10 formol içinde tespit edildi. Rutin takip işlemleri sonrası parafinle bloklandı. 5 mikrometrelilik kesitler yapılarak hematoksilin eosin boyasıyla boyandı ve ışık mikroskopu ile incelendi. İnceleme SDÜ Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Patoloji Laboratuvarı'nda tek patolog tarafından kör tarzda yapıldı.

Akciğer dokusu, PMNL infiltrasyonu, intraalveolar lökosit ve alveolar septal genişleme açısından incelendi. Her bir özellik 0-3 arası skora yapılarak sınıflandırıldı. Skorlama sistemi;

- (0): Değişiklik yok,
- (1): Hafif değişiklikler,
- (2): Orta derece değişiklikler,
- (3): Şiddetli değişiklikler şeklinde gruplandı.

Ayrıca histopatolojik olarak incelenen üç parametrenin toplamı alınarak kümülatif histolojik skor elde edildi.

### 3.6. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmamızda elde edilen bulguların istatistiksel değerlendirmeleri Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 15.0 istatistik programı ile yapıldı. Tüm grupların hemorajik şok öncesi ve sonrası biyokimyasal parametrelerinin ve histopatolojik inceleme skorlarının ortalama ve standart sapma (SS) değerleri alındı. Grupların kendi içlerinde hemorajik şok öncesi ve sonrası biyokimyasal değerlerinin karşılaştırmalarında Wilcoxon Signed Ranks testi kullanıldı.

Akciğer doku örneklerinin değerlendirilmesinde; grupların interstisyel PMNL, intraalveolar PMNL, alveolar septal kalınlık ve kümülatif histopatolojik skor ortalamaları bakımından ikili karşılaştırmalarında Mann Whitney-U testi kullanıldı. Tüm testlerde  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Grupların hemorajik şok öncesi ve sonrası IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  ortalama ve ss değerleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

**Tablo 2: Grupların Hemorajik Şok Öncesi ve Sonrası Biyokimyasal Sonuçlarının Ortalama $\pm$ ss Değerleri (pg/ml)**

	Grup I**	Grup II	Grup III	Grup IV
Prehemoraji IL-1	38.5 $\pm$ 14.4	73.1 $\pm$ 34.7	66.5 $\pm$ 23.2	55.8 $\pm$ 13.6
Posthemoraji IL-1	35.8 $\pm$ 8.8	<b>43.3 <math>\pm</math> 15.3*</b>	<b>40.0 <math>\pm</math> 16.0*</b>	56.5 $\pm$ 31.5
Prehemoraji IL-6	27.0 $\pm$ 4.4	28.1 $\pm$ 3.4	27.6 $\pm$ 1.8	25.8 $\pm$ 1.8
Posthemoraji IL-6	26.7 $\pm$ 1.7	26.7 $\pm$ 2.6	28.7 $\pm$ 3.0	<b>28.6 <math>\pm</math> 1.7*</b>
Prehemoraji IL-10	11.9 $\pm$ 38.4	7.8 $\pm$ 5.7	11.4 $\pm$ 5.6	10.7 $\pm$ 7.0
Posthemoraji IL-10	11.1 $\pm$ 10.6	4.6 $\pm$ 5.0	9.7 $\pm$ 6.3	<b>4.6 <math>\pm</math> 3.0*</b>
Prehemoraji TNF- $\alpha$	106.1 $\pm$ 101.4	106.0 $\pm$ 93.3	133.0 $\pm$ 139.8	168.5 $\pm$ 260.1
Posthemoraji TNF- $\alpha$	101.6 $\pm$ 72.4	<b>53.2 <math>\pm</math> 41.8*</b>	203.5 $\pm$ 274.4	150.7 $\pm$ 235.5

\* p <0,05 anlamlı

\*\* Grup I için ilk ve 24 saat sonra alınan kan örneklerinin biyokimyasal sonuçlarının ortalama $\pm$ ss değerleri (pg/ml)

Grupların hemorajik şok öncesi ve sonrası IL-1, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  değerlerinin istatistiksel değerlendirme sonuçları Tablo 3’de gösterilmiştir.

**Tablo 3: Grupların Biyokimyasal Verilerinin Prehemorajik ve Posthemorajik Zaman Dilimlerinde Grup içi Karşılaştırma Sonuçları ve P Değerleri**

GRUPLAR	Karşılaştırma Sonuçları P değerleri			
	Grup I**	Grup II	Grup III	Grup IV
Prehem. IL-1 / Posthem. IL-1	0.125	<b>0.022*</b>	<b>0.011*</b>	0.333
Prehem. IL-6 / Posthem. IL-6	0.211	0.241	0.260	<b>0.009*</b>
Prehem. IL-10 / Posthem. IL-10	0.855	0.114	0.767	<b>0.017*</b>
Prehem. TNF- $\alpha$ / Posthem. TNF- $\alpha$	0.203	<b>0.005*</b>	0.514	0.109

\*p <0,05 anlamlı

\*\* Grup I için ilk ve 24 saat sonra alınan kan örneklerinin biyokimyasal sonuçlarının grup içi karşılaştırma sonuçları ve p değerleri



Grupların kendi içinde prehemorajik ve posthemorajik IL-1 değerleri incelendiğinde;

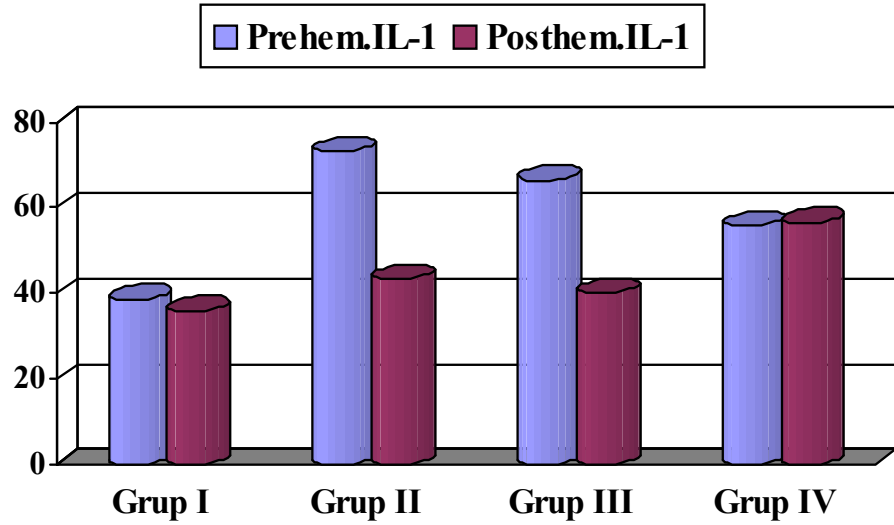
Grup I'de 24 saat sonra alınan kan örneklerindeki IL-1 değerlerinde, ilk alınan örneklerdeki IL-1 değerlerine göre azalma tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup II'de posthemorajik IL-1 değerlerinde, prehemorajik IL-1 değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı ( $p=0.022$ ).

Grup III'de posthemorajik IL-1 değerlerinde, prehemorajik IL-1 değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı ( $p=0.011$ ).

Grup IV'de posthemorajik IL-1 değerlerinde, prehemorajik IL-1 değerlerine göre artış tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Prehemorajik ve posthemorajik IL-1 değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1: Grupların Prehemorajik ve Posthemorajik IL-1 Değerlerinin Karşılaştırılması

Grupların kendi içinde prehemorajik ve posthemorajik IL-6 değerleri incelendiğinde;

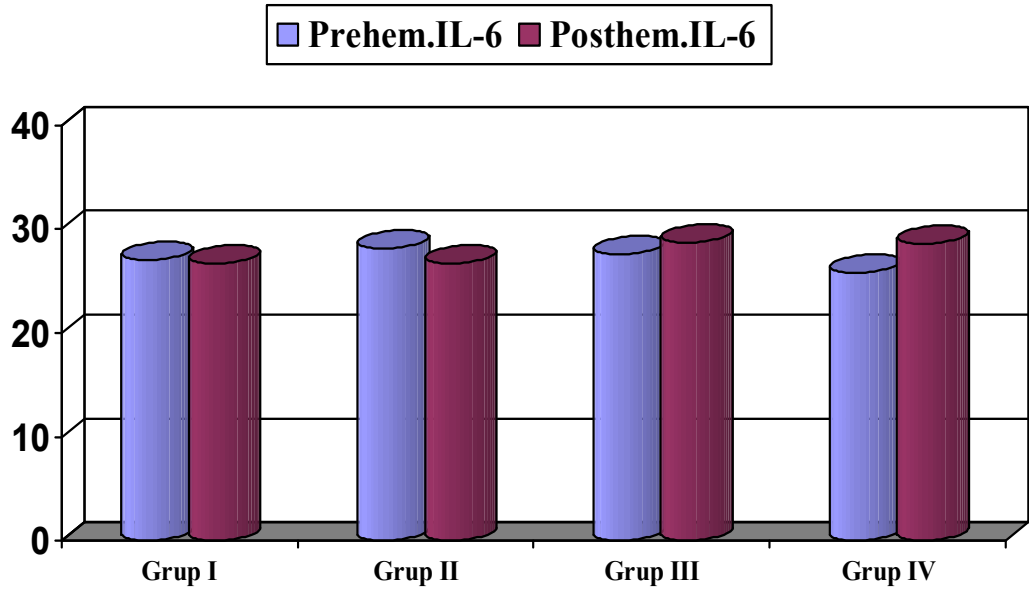
Grup I'de 24 saat sonra alınan kan örneklerindeki IL-6 değerlerinde, ilk alınan örneklerdeki IL-6 değerlerine göre azalma tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup II'de posthemorajik IL-6 değerlerinde, prehemorajik IL-6 değerlerine göre azalma tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup III'de posthemorajik IL-6 değerlerinde, prehemorajik IL-6 değerlerine göre artma tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup IV'de posthemorajik IL-6 değerlerinde, prehemorajik IL-6 değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu tespit edildi ( $p=0.009$ ).

Prehemorajik ve posthemorajik IL-6 değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 2'de gösterilmiştir.



Şekil 2: Grupların Prehemorajik ve Posthemorajik IL-6 Değerlerinin Karşılaştırılması

Grupların kendi içinde prehemorajik ve posthemorajik IL-10 değerleri incelendiğinde;

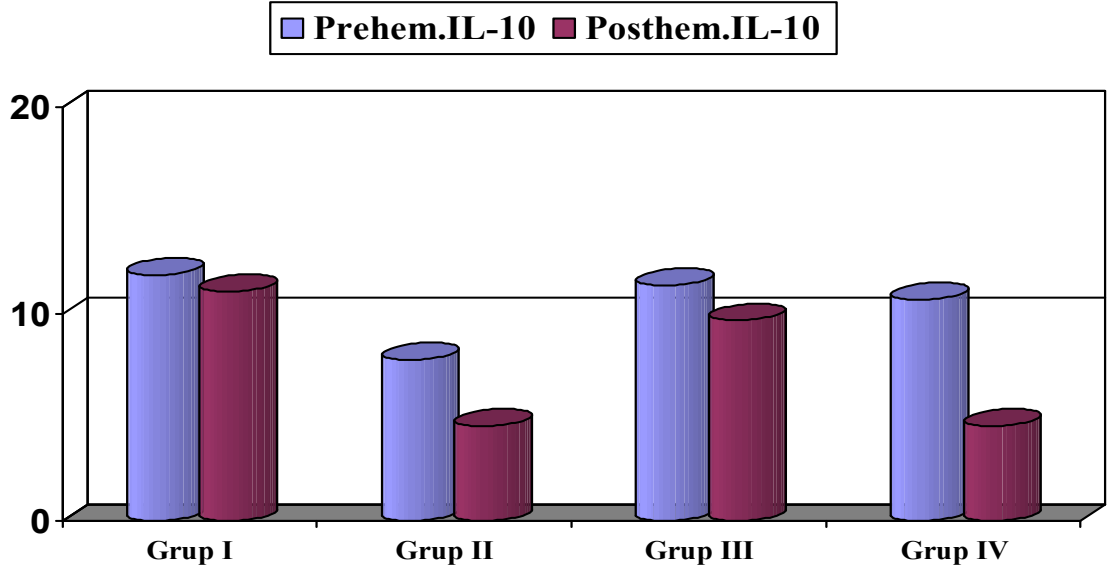
Grup I'de 24 saat sonra alınan kan örneklerindeki IL-10 değerlerinde, ilk alınan örneklerdeki IL-10 değerlerine göre azalma tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup II'de posthemorajik IL-10 değerlerinde, prehemorajik IL-10 değerlerine göre azalma tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup III'de posthemorajik IL-10 değerlerinde, prehemorajik IL-10 değerlerine göre azalma tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup IV'de posthemorajik IL-10 değerlerinde, prehemorajik IL-10 değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi ( $p=0.017$ ).

Prehemorajik ve posthemorajik IL-10 değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil 3: Grupların Prehemorajik ve Posthemorajik IL-10 Değerlerinin Karşılaştırılması

Grupların kendi içinde prehemorajik ve posthemorajik TNF- $\alpha$  değerleri incelendiğinde;

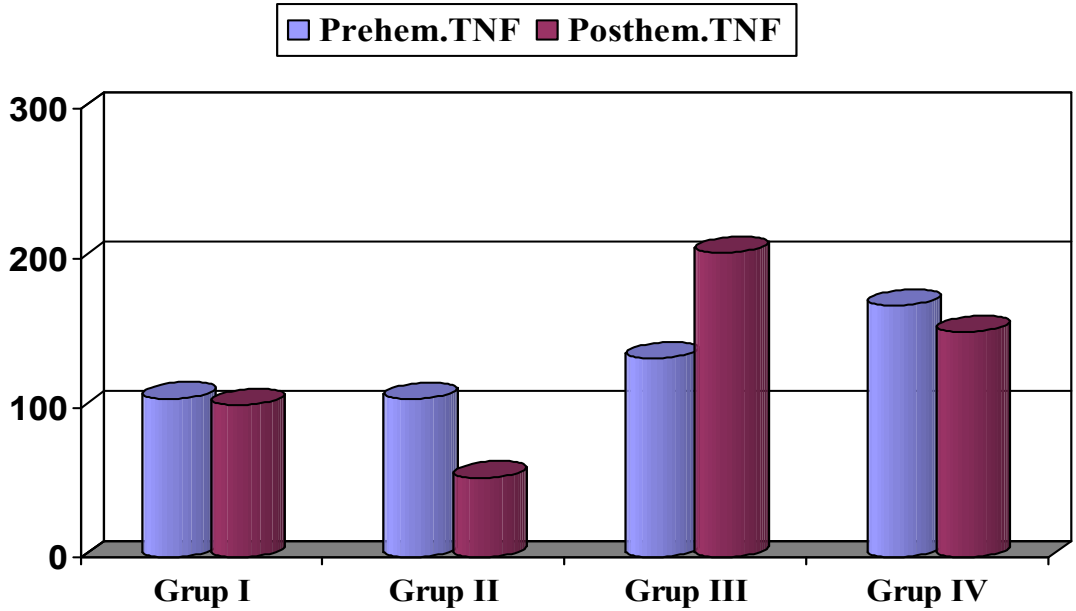
Grup I'de 24 saat sonra alınan kan örneklerindeki TNF- $\alpha$  değerlerinde, ilk alınan örneklerdeki TNF- $\alpha$  değerlerine göre azalma tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup II'de posthemorajik TNF- $\alpha$  değerlerinde, prehemorajik TNF- $\alpha$  değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi (**p=0.005**).

Grup III'de posthemorajik TNF- $\alpha$  değerlerinde, prehemorajik TNF- $\alpha$  değerlerine göre artış olduğu tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup IV'de posthemorajik TNF- $\alpha$  değerlerinde, prehemorajik TNF- $\alpha$  değerlerine göre azalma tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Prehemorajik ve posthemorajik TNF- $\alpha$  değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması Şekil 4'de gösterilmiştir.



Şekil 4: Grupların Prehemorajik ve Posthemorajik TNF- $\alpha$  Değerlerinin Karşılaştırılması

### Akciğer Doku Örneklerinin Değerlendirilmesi

Grup III'de 1 adet ratta yapılan median sternotomide toraksda yaygın sıvı formasyonu gözlenmiş olup patolojik incelemede mikroskopik olarak akciğerde yaygın fibrozis gözlemlendi ve akciğer doku örneği değerlendirme dışı bırakıldı.

Grupların akciğer doku örnekleri interstisyel PMNL, intraalveolar PMNL ve alveolar septal kalınlık bakımından normal akciğer doku örneği ile şiddetli akciğer doku hasarı arasında 0-3 arası skor verilerek sınıflandırıldı.

Grupların akciğer doku örneklerinin incelenmesinde histopatolojik skorların ortalama  $\pm$  ss değerleri Tablo 4'de gösterilmiştir.

**Tablo 4: Grupların Histopatolojik Skorlarının Ortalama  $\pm$  ss Değerleri**

Gruplar	İnterstisyel PMNL	İntraalveolar PMNL	Alveolar septal kalınlık	Kümülatif histolojik skor
Grup I	2.0 $\pm$ 0.94	1.7 $\pm$ 0.95	1.7 $\pm$ 0.95	5.4 $\pm$ 2.6
Grup II	3.0 $\pm$ 0	2.7 $\pm$ 0.48	3.0 $\pm$ 0	8.7 $\pm$ 0.48
Grup III	2.8 $\pm$ 0.42	2.9 $\pm$ 0.32	2.6 $\pm$ 0.52	8.3 $\pm$ 1.05
Grup IV	2.0 $\pm$ 0	2.4 $\pm$ 0.52	1.9 $\pm$ 0.32	6.3 $\pm$ 0.67

Grupların interstisyel PMNL yoğunluğu değerlendirildiğinde;

Grup I'de 10 adet ratın 1'inde akciğer doku örneklerinin histopatolojik incelemesi normal olarak değerlendirildi. Bir tanesinde hafif değişiklikler varken, 5 ratta orta derece değişiklikler mevcuttu. 3 tanesinde şiddetli derece interstisyel PMNL mevcuttu.

Grup II'de 10 adet ratın hepsinde şiddetli derece interstisyel PMNL mevcuttu.

Grup III'de 2 adet ratta interstisyel PMNL yönünden orta derece değişiklik varken, 7 adet ratta şiddetli değişiklik mevcuttu.

Grup IV'de 10 adet ratın hepsinde orta derece interstisyel PMNL mevcuttu. Grupların akciğer doku örneği interstisyel PMNL inceleme sonuçları Tablo 5'de gösterilmiştir.

**Tablo 5: Gruplara Göre İnterstisyel PMNL Skorları ve Her Bir Skora Dahil Olan Rat Doku Örneği Sayısı**

Gruplar Skor	İnterstisyel PMNL Değerlendirmesi			
	Değişiklik yok (0)	Hafif değişiklik (1)	Orta derece değişiklik (2)	Şiddetli değişiklik (3)
<b>Grup I</b> (n=10)	1	1	5	3
<b>Grup II</b> (n=10)	-	-	-	10
<b>Grup III</b> (n=9)	-	-	2	7
<b>Grup IV</b> (n=10)	-	-	10	-

Grupların intersitisyel PMNL skorlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde (Tablo 6);

Grup I ile Grup II'nin karşılaştırılmasında Grup II'de PMNL infiltrasyonu skorunun anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü (**p=0.013**).

Grup I ile Grup III'ün karşılaştırılmasında Grup III'de PMNL infiltrasyonu skoru yüksek idi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup I ile Grup IV'ün karşılaştırılmasında her iki grubun PMNL infiltrasyonu skor ortalaması arasında anlamlı fark olmadığı tespit edildi.

Grup II ile Grup III'ün karşılaştırılmasında Grup II'de intersitisyel PMNL infiltrasyonu skoru ortalaması daha yüksek idi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup II ile Grup IV'ün karşılaştırılmasında Grup II'de PMNL infiltrasyonu skorunun anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü (**p= 0.000**).

Grup III ile Grup IV'ün karşılaştırılmasında Grup III'de PMNL infiltrasyonu skorunun anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü (**p=0.001**).

**Tablo 6: Grupların İntersitisyel PMNL Skorlamasına Göre İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları**

Gruplar	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Grup I	-	<b>0.013*</b>	0.135	0.083
Grup II	<b>0.013*</b>	-	0.474	<b>0.000*</b>
Grup III	0.135	0.474	-	<b>0.001*</b>
Grup IV	0.083	<b>0.000*</b>	<b>0.001*</b>	-

\*p <0.05 anlamlı

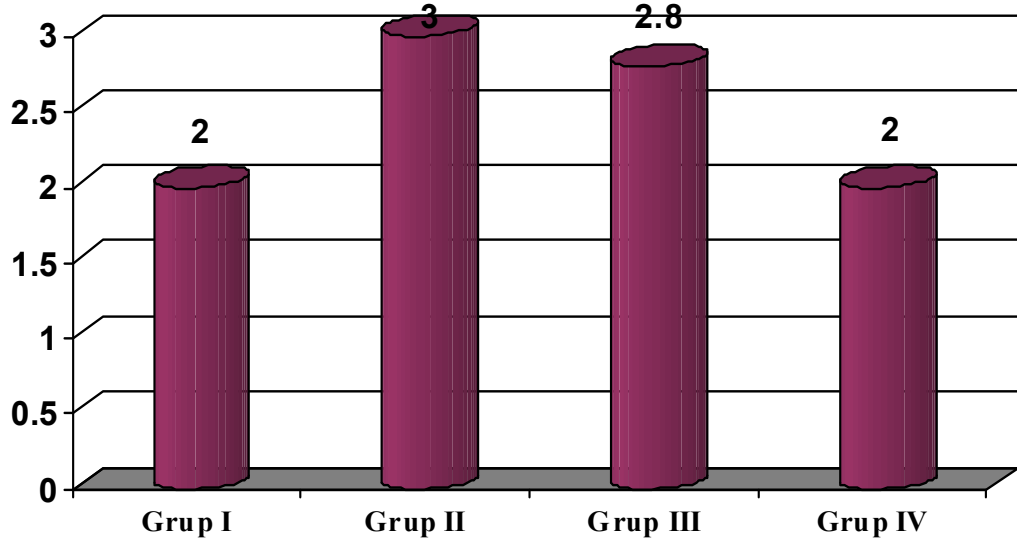
Grupların interstisyel PMNL yoğunluk skorları incelendiğinde;

Grup II'de PMNL infiltrasyonunun Grup I ve Grup IV'e göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi.

Grup III'de PMNL infiltrasyonunun Grup IV'e göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi.

Grup IV'de PMNL infiltrasyonunun Grup II ve Grup III'e göre anlamlı olarak az olduğu tespit edildi.

Grupların posthemorajik akciğer doku örneği histopatolojik incelenmesinde interstisyel PMNL skorları Şekil 5'de gösterilmiştir.



Şekil 5: Gruplar Arası İnterstisyel PMNL Skor Ortalamaları Karşılaştırılması



Grupların intraalveolar PMNL yoğunluğu değerlendirildiğinde;

Grup I’de, 1 adet ratta değişiklik yoktu, 3 ratta hafif değişiklik, 4 ratta orta derece, 2 ratta şiddetli derece intraalveolar PMNL mevcuttu.

Grup II’de, 3 ratta orta derece, 7 ratta şiddetli derece intraalveolar PMNL mevcuttu.

Grup III’de 1 ratta orta derece, 8 ratta şiddetli derece intraalveolar PMNL mevcuttu.

Grup IV’de, 6 ratta orta derece, 4 ratta şiddetli derece intraalveolar PMNL mevcuttu.

Grupların akciğer doku örneği intraalveolar PMNL inceleme sonuçları Tablo 7’de gösterilmiştir.

**Tablo 7: Gruplara Göre İnteraalveolar PMNL Skorları ve Her Bir Skora Dahil Olan Rat Doku Örneği Sayısı**

Gruplar Skor	İnteraalveolar PMNL Değerlendirmesi			
	Değişiklik yok (0)	Hafif değişiklik (1)	Orta derece değişiklik (2)	Şiddetli değişiklik (3)
<b>Grup I</b> (n=10)	1	3	4	2
<b>Grup II</b> (n=10)	-	-	3	7
<b>Grup III</b> (n=9)	-	-	1	8
<b>Grup IV</b> (n=10)	-	-	6	4

Grupların intraalveolar PMNL skorlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde (Tablo 8);

Grup I ile Grup II'nin karşılaştırılmasında Grup II'de intraalveolar PMNL skorunun yüksek olduğu tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Grup I ile Grup III'ün karşılaştırılmasında Grup III'de intraalveolar PMNL skorunun anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi (**p=0.017**). Grup I ile Grup IV'ün karşılaştırılmasında Grup IV'de intraalveolar PMNL skorunun yüksek olduğu tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup II ile Grup III'ün karşılaştırılmasında Grup III'de intraalveolar PMNL skorunun yüksek olduğu tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Grup II ile Grup IV'ün karşılaştırılmasında Grup II'de intraalveolar PMNL skorunun yüksek olduğu tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup III ile Grup IV'ün karşılaştırılmasında Grup III'de intraalveolar PMNL skorunun yüksek olduğu tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

**Tablo 8: Grupların İntraalveolar PMNL Skorlamasına Göre İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları**

Gruplar	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Grup I	-	0.074	<b>0.017*</b>	0.167
Grup II	0.074	-	0.582	0.370
Grup III	<b>0.017*</b>	0.582	-	0.057
Grup IV	0.167	0.370	0.057	-

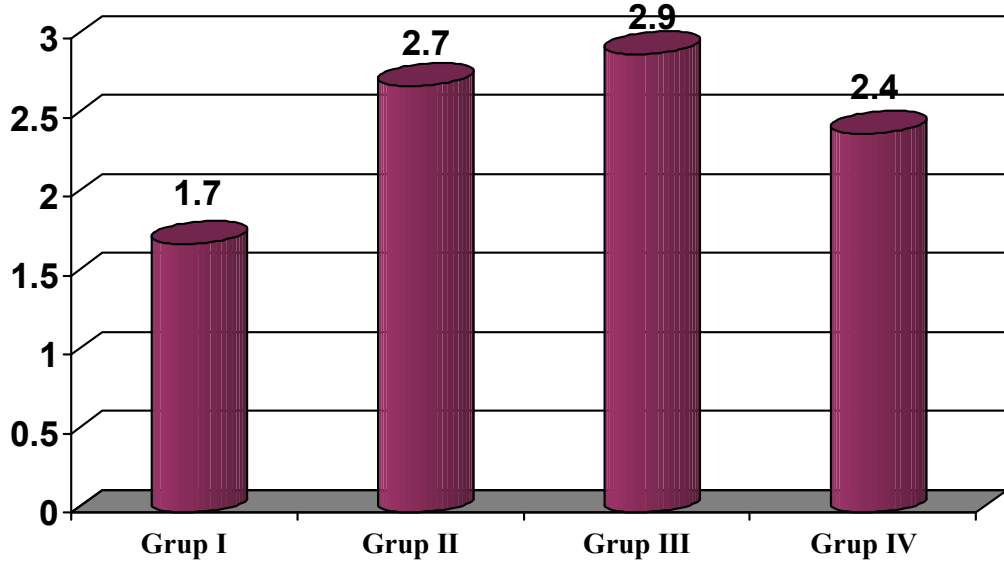
\*p < 0.05 anlamlı

Grupların alveoler PMNL yoğunluk skorları incelendiğinde;

Grup II ve Grup III'de intraalveolar PMNL diğer gruplara göre daha yüksek idi.

Grup III'de intraalveolar PMNL'nin Grup I'e göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi.

Grup IV'de intraalveolar PMNL'nin Grup II ve Grup III'e göre az olduğu tespit edildi. Grupların posthemorajik akciğer doku örneği histopatolojik incelenmesinde intraalveolar PMNL skorları Şekil 6'da gösterilmiştir.



Şekil 6: Gruplar Arası Alveolar PMNL Skor Ortalamaları Karşılaştırılması

Gruplara göre alveolar septal kalınlık oranı değerlendirildiğinde;

Grup I'de, 1 ratta değişiklik yoktu. 3 ratta hafif, 4 ratta orta, 2 ratta şiddetli derece değişiklik mevcuttu.

Grup II'de, ratların hepsinde şiddetli derece alveolar septal kalınlaşma mevcuttu.

Grup III'de, 4 ratta orta derece, 6 ratta şiddetli derece alveolar septal kalınlaşma mevcuttu.

Grup IV'de, 1 ratta hafif, 9 ratta orta derece alveolar septal kalınlaşma mevcuttu.

Grupların akciğer doku örneği alveolar septal kalınlık inceleme sonuçları Tablo 9'da gösterilmiştir.

**Tablo 9: Gruplara Göre Alveolar Septal Kalınlık Skorları ve Her Bir Skora Derecesine Dahil Olan Rat Doku Örneği Sayısı**

Gruplar Skor	Alveolar Septal Kalınlık Değerlendirmesi			
	Değişiklik yok (0)	Hafif değişiklik (1)	Orta derece değişiklik (2)	Şiddetli değişiklik (3)
<b>Grup I</b> (n=10)	1	3	4	2
<b>Grup II</b> (n=10)	-	-	-	10
<b>Grup III</b> (n=9)	-	-	4	5
<b>Grup IV</b> (n=10)	-	1	9	-

Grupların alveolar septal kalınlık skorlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi Tablo 10’da gösterildi.

Grup I ile Grup II’nin karşılaştırılmasında Grup II’de alveolar septal kalınlık skorunun istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu tespit edildi (**p=0.004**). Grup I ile Grup III’n karşılaştırılmasında Grup III’de alveolar septal kalınlık skorunun yüksek olduğu tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Grup I ile Grup IV’n karşılaştırılmasında Grup IV’de alveolar septal kalınlık skorunun yüksek olduğu tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup II ile Grup III’n karşılaştırılmasında Grup II’de alveolar septal kalınlık skorunun yüksek olduğu tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Grup II ile Grup IV’n karşılaştırılmasında Grup II’de alveolar septal kalınlık skorunun anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi (**p=0.000**).

Grup III ile Grup IV’n karşılaştırılmasında Grup III’de alveolar septal kalınlık skorunun anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi (**p=0.012**).

**Tablo 10: Grupların Alveolar Septal Kalınlık Skorlamasına Göre İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları**

Gruplar	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Grup I	-	<b>0.004*</b>	0.112	0.115
Grup II	<b>0.004*</b>	-	0.087	<b>0.000*</b>
Grup III	0.112	0.087	-	<b>0.012*</b>
Grup IV	0.115	<b>0.000*</b>	<b>0,012*</b>	-

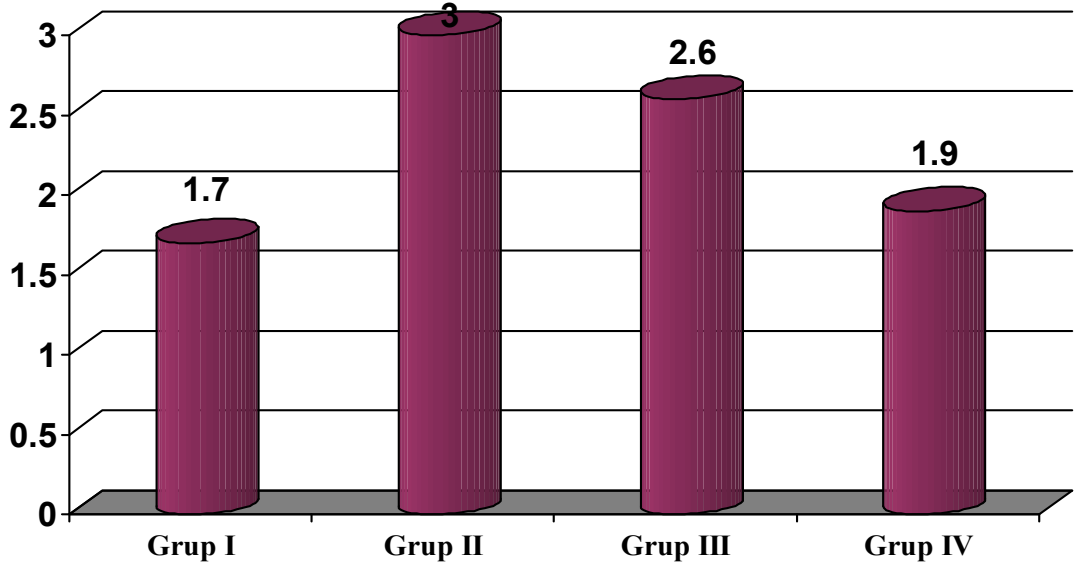
\*p < 0.05 anlamlı

Grupların alveolar septal kalınlık skorları incelendiğinde;

Grup II'de alveolar septal kalınlık skorunun Grup I ve Grup IV'e göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi. Grup II'de alveolar kalınlık skorunun Grup III'e göre yüksek olduğu tespit edildi.

Grup III'de Grup IV'e göre alveolar septal kalınlık skorunun anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi.

Grupların posthemorajik akciğer doku örneği histopatolojik incelenmesinde alveolar septal kalınlık skorları Şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil 7: Gruplar Arası Alveolar Septal Kalınlık Skor Ortalamaları Karşılaştırılması

Grupların interstisyel PMNL, intraalveolar PMNL ve alveolar septal kalınlık skorları toplanarak elde edilen akciğer doku örneği kümülatif histolojik skorlarının ortalamaları ve SS değerleri Tablo 11’de gösterilmiştir.

**Tablo 11: Kümülatif Histolojik Skor Ortalamaları ± SS Değerleri**

Gruplar	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Skor	5.4 ± 2.63	8.7 ± 0.48	8.3 ± 1.05	6.3 ± 0.67

Grupların kümülatif histolojik skorlarının istatistiksel olarak değerlendirilmesinde (Tablo 12);

Grup I ile Grup II’nin karşılaştırılmasında Grup II’de kümülatif histolojik skorunun istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu tespit edildi (**p=0.001**). Grup I ile Grup III’ün karşılaştırılmasında Grup III’de kümülatif histolojik skorunun istatistiksel olarak anlamlı yüksek olduğu tespit edildi (**p=0.005**). Grup I ile Grup IV’ün karşılaştırılmasında Grup IV’de kümülatif histolojik skorunun yüksek olduğu tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Grup II ile Grup III’ün karşılaştırılmasında Grup II’de kümülatif histolojik skorunun yüksek olduğu tespit edildi ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Grup II ile Grup IV’ün karşılaştırılmasında Grup II’de kümülatif histolojik skorunun anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi (**p=0.000**).

Grup III ile Grup IV’ün karşılaştırılmasında Grup III’de kümülatif histolojik skorunun anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi (**p=0.001**).

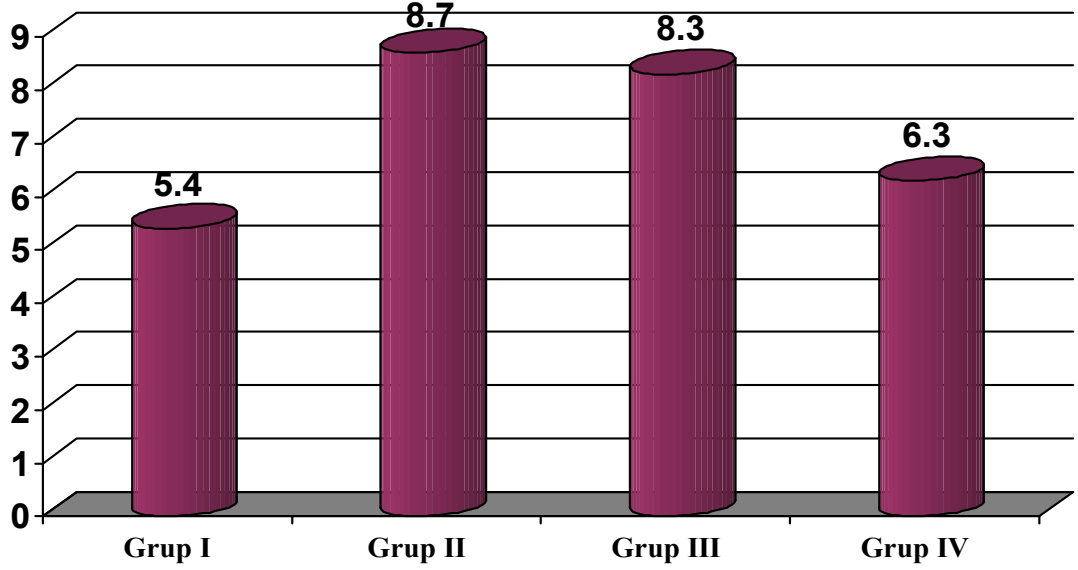
**Tablo 12: Grupların Kümülatif Histolojik Skorlamasına Göre İstatistiksel Karşılaştırma Sonuçları (\*p <0.05 anlamlı)**

Gruplar	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV
Grup I	-	<b>0.001*</b>	<b>0.005*</b>	0.460
Grup II	<b>0.001*</b>	-	0.473	<b>0.000*</b>
Grup III	<b>0.005*</b>	0.473	-	<b>0.001*</b>
Grup IV	0.460	<b>0.000*</b>	<b>0.001*</b>	-

Tüm grupların kümülatif histolojik skorları incelendiğinde;

Grup II ve Grup III'de kümülatif histopatolojik skor ortalama değerleri Grup I ve Grup IV'e göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu.

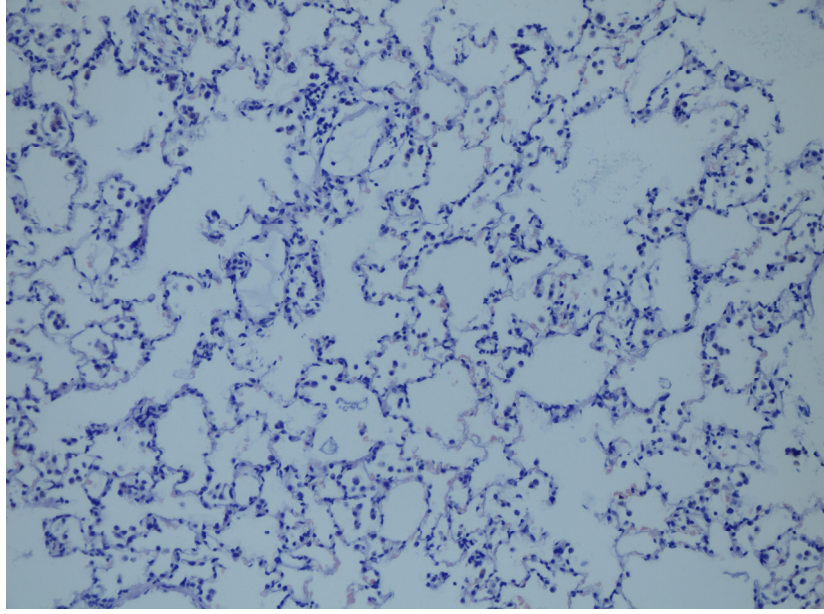
Grupların posthemorajik akciğer doku örneği histopatolojik incelenmesinde kümülatif histolojik skorları Şekil 8'de gösterilmiştir.



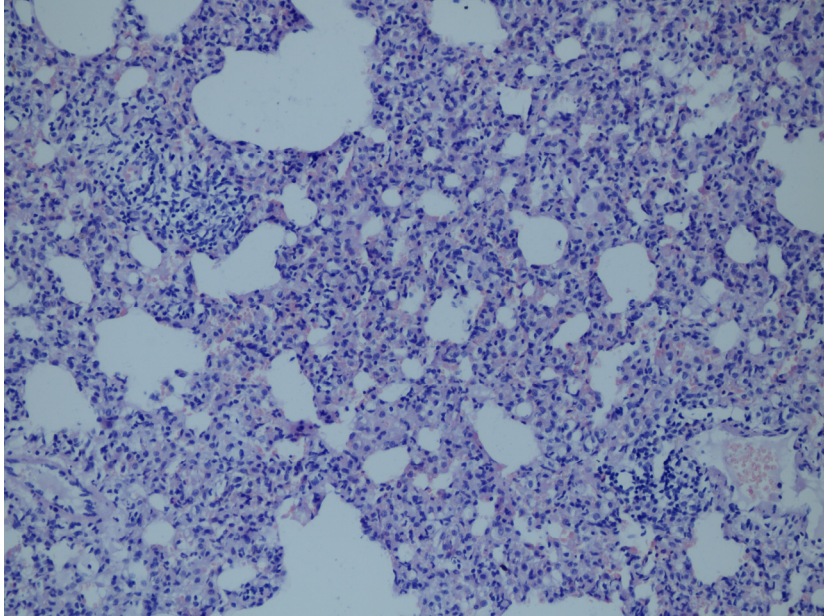
**Şekil 8: Gruplar Arası Kümülatif Histolojik Skorlarının Ortalama Değerleri Karşılaştırılması**



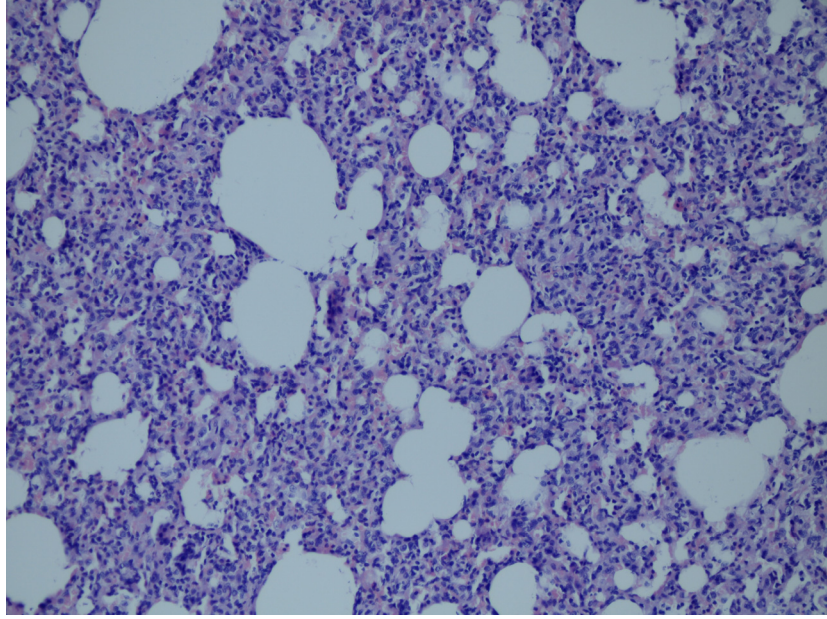
Tüm grupların histolojik olarak akciğer doku örneklerindeki görünümleri sırasıyla Resim 7, 8, 9, 10'da gösterilmiştir.



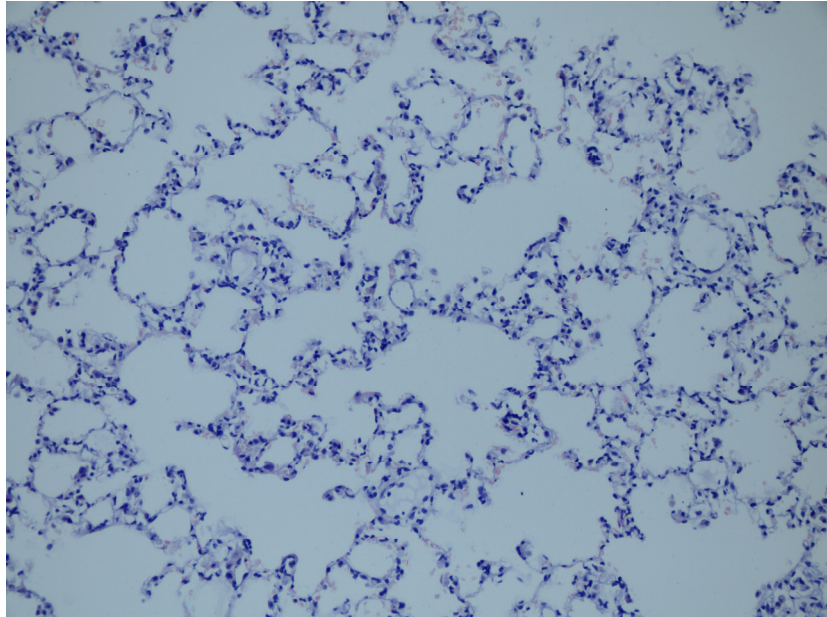
**Resim 7: Grup I; Normal Akciğer Dokusu Histolojik Görünümü**



**Resim 8: Grup II; İnterstiyel PMNL İnfiltrasyonu ve Alveolar Septal Kalınlık Artışının Histolojik Görünümü**



**Resim 9: Grup III; İnterstisyel PMNL İnfiltasyonu ve Alveolar Septal Kalınlık Artışının Histolojik Görünümü**



**Resim 10: Grup IV; PMNL İnfiltasyonu ve Alveolar Septal Kalınlık Bakımından Histolojik Görünüm**

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Hemorajik şok, intravasküler dolaşan kan volümü miktarının azalması nedeni ile dokuların yetersiz perfüzyonudur. Hemorajik şok, kardiyak output ve dokuya oksijen taşıma kapasitesinde azalmaya neden olur. Mikrosirkülasyon bozukluğuna bağlı olarak doku hipoksisi gelişir (1). Şok süresince hipoksidede kalan dokulara yeterli oksijenasyonun sağlanamaması sonucu hücre içi oksijen basıncı kritik seviyenin altına inerse, hücrelerde mitokondrial fonksiyonlarda bozukluğa, hücre membran devamlılığı ve fonksiyonlarında bozukluğa ve hücre ölümüne neden olur (2).

Hemorajik şokun resusitasyonu sonucunda reperfüzyon ile dokunun kanlanması yeniden başlar ve İ-R döngüsü travma hastalarında inflamatuvar uyarıya karşı bir cevabın ortaya çıkmasına neden olur.

İ-R döngüsünden sonra açığa çıkan mediyatörler sistemik inflamatuvar yolların aktivasyonuna neden olarak başta akciğerler olmak üzere, karaciğer, kalp, beyin ve böbrekler gibi uzak organlarda hasar oluştururlar. İ-R döngüsünün sonrasında gelişen sistemik inflamatuvar yanıtın en fazla akciğerler etkilenir. Büyük travmalardan ve hemorajik şoktan sonra gelişen akciğer hasarı ise morbidite ve mortalitenin artmasına neden olmaktadır (8,14,15).

İskemik bir dokuda kan akımının yeniden başlaması durumunda, nötrofillerin etkileşimi sonucu endotel yüzeyi boyunca nötrofil tutulumu gerçekleşir. PMNL'lerin endotel hücrelerine adezyonu sonrası açığa çıkan serbest oksijen radikalleri, lipid ve nükleik asitlerin peroksidasyonu yoluyla endotelial tabakada hasar oluşturur, kapiller permeabilite artar, alveolar ve interstisyel ödem gelişir (47,48,51,74,75).

İskemi sonrasındaki reperfüzyonda aktive nötrofiller akciğer hasarına çeşitli yollarla katkıda bulunurlar. Aktive olmuş nötrofiller serbest radikal kaynaklarıdır. Nötrofillerin aktive olup İ-R hasarında etkili mediyatörleri salabilmesi için endotelyuma yapışması gerekir. Endotelyuma adere ve migrate olan nötrofiller, süperoksit anyonu,  $\text{OH}^-$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$  gibi reaktif oksijen metabolitleri üreterek, kollajenaz, elastaz, katepsin G gibi proteolitik enzimler ile peroksidazları serbestleştirerek direk ya da indirek olarak pulmoner endotelyumu hasara

uğratabilirler. Aktive nötrofillerin akciğer ve diğer organlara sekestrasyonu multisistem organ yetmezliği gelişiminde önemli bir basamaktır (76).

Hemorajik şok gibi sitokin cevabı oluşan durumlarda hastalarda hemodinamik, metabolik ve immün yanıtlar kısmen endojen sitokinler tarafından yönlendirilmektedir. Sitokinler etkilerini spesifik hücre reseptörlerine bağlanarak ve intraselüler mekanizmaları aktive ederek gösterirler. Bu mediyatörler, inflamatuvar yanıtı artıran (proinflamatuvar) veya azaltan (antiinflamatuvar) diğer sitokinlerin de yapımını ve fonksiyonlarını regüle ederler. Reperfüzyon sonrası proinflamatuvar sitokinler ortaya çıkar.

Aktive nötrofiller belirgin miktarlarda IL-1, IL -6, TNF- $\alpha$  oluşturabilirler (76). Bu inflamatuvar sitokinlerde G-CSF'nin üretimini artırır (56). G-CSF granülotik progenitor hücrelerin diferansiyasyonunu ve büyümesini regüle eden ve çeşitli türleri olan bir glikoproteindir (54). Glukan nonspesifik bir immunostimulan olmasına rağmen potent etkisi makrofajlar üzerinedir. Deneysel çalışmalarda beta-glukanın IL-6 üzerinde salınımı artırıcı etkileri olduğu bildirilmiştir. Masih ve ark. (71) beta glukan türevlerinin TNF- $\alpha$  üzerinde baskılayıcı, IL-1, IL-6 ve IL-10 üzerinde salınımı artırıcı etkisi olduğunu göstermişlerdir.

Biz de bu konuya dayanarak çalışmamızda hemorajik şok modeli uygulanan ratlarda güçlü bir antioksidan ve immünomodülatör olduğu bilinen beta-glukanın ve inflamasyonda büyük rol oynayan nötrofilleri kesin olarak aktive ettiği bilinen G-CSF'nin akut akciğer hasarı üzerine etkilerini araştırmayı planladık. Bu amaçla ratlarda oluşturduğumuz hemorajik şok modelinde sıvı resüsitasyonu, sıvı resüsitasyonu ve G-CSF, sıvı resüsitasyonu ve beta-glukan uygulayarak şok sonrası 24. saatte kan örneklerinde IL-1, IL-6, IL-10 ve TNF- $\alpha$  üzerine etkisini inceledik.

IL-1 makrofajlardan ve endotelial hücrelerden salınan, akut faz reaktanı olarak bilinen bir sitokindir. Travma sonrası IL-1 ve TNF- $\alpha$  düzeyleri yükseldiğinde sitokinler bağımsız olarak bir hemodinamik dekompanzasyona neden olurlar. Düşük dozlarda ise yalnızca eşzamanlı olarak verildiklerinde aynı yanıtı oluştururlar. Çalışmamızda hemorajik şok sonrası IL-1 değerleri hemorajik şok grubunda azalmış olarak tespit edildi.

Molina ve ark. (77) hemorajik şok modelinde, şok sonrası, resüsitasyondan hemen sonra ve resüsitasyondan 1,5 saat sonra plazma ve doku IL-1 değerlerinde değişim olmadığını bildirmişlerdir. Hemorajik şok ve resüsitasyon sonrası sitokin değerlerinin cinsiyete göre karşılaştırıldığı bir modelde, erkek farelerde şok sonrası IL-1 salınımının daha az olduğu gösterilmiştir (78). Jiang ve ark. (79) hemorajik şok sonrası vital organlar ve plazma sitokin seviyelerinin resüsitasyon sonrası belirli saatlerdeki değerlerini karşılaştırdıkları modelde, plazma IL-1 seviyesinin erken dönemde arttığını ve şok sonrası 3. saatte bazal değere gerilediğini göstermişlerdir. Çalışmamızda hemorajik şok grubundaki IL-1 değerlerinde saptanan azalmanın, serum örneklerinin 24 saat sonra alınması nedeniyle bu dönemde IL-1 seviyesinin azalmasına bağlı olabileceği düşünüldü. Çalışmamızda hemorajik şok sonrası sıvı resüsitasyonu ve G-CSF uyguladığımız grupta, şok sonrası IL-1 değerinde azalma tespit edildi. Hartung ve ark. (80) G-CSF'ün kan sitokin yanıtına etkisinin "ex vivo" olarak araştırıldığı bir çalışmada nötrofillerden ve monositlerden IL-1 reseptör antagonistinin serbestleştiğini ve IL-1 salınmasını baskıladığını göstermişlerdir. Bulgularımız bu çalışma ile uyumlu idi.

Çalışmamızda sıvı resüsitasyonu ve beta-glukan uyguladığımız grup IV'de IL-1 değeri hemorajik şok sonrası hafif derecede artmış olarak saptandı. Bu sonucumuz, Brown ve ark. beta-glukanın lökositlerin fagositik, sitotoksik aktivitelerini arttırarak reaktif oksijen ve nitrojen aracılı antimikrobiyal aktivitelerini arttırdığı ve direk olarak lökositleri aktif hale getirdiği ve ayrıca IL-8, IL-1, IL-6 gibi sitokinleri stimüle ettikleri bildirdiği çalışma ile uyumludur (65).

IL-6 fibroblast, endotelial hücreler, nötrofiller, monositler ve lenfositler tarafından üretilir ve inflamatuvar yanıtta lökositlerin olgunlaşması ve aktivasyonunda görev alır. IL-6 düzeyinin akut inflamatuvar yanıtın bir göstergesi olarak, ameliyat sonrasında yüksek seyretmesi kötü prognozun belirtilerinden kabul edilmektedir ve hemorajik şokta artmış mortalite ile birlikte olduğu gösterilmiştir (31).

Heirholzer ve ark.'nın yaptığı 16 ratın kullanıldığı kontrollü hemorajik şok oluşturulan modelde, ratlar 4 gruba ayrılarak 1, 2.5, 3.5 saat süresince şok uygulanmıştır. Resüsitasyon sonrası sitokin seviyeleri ölçülmüş ve IL-6 seviyesinin şok sonrası 1. saatte en yüksek seviyede olduğu gösterilmiştir (81). Başka bir

çalışmalarında, ratlara trakeal yoldan farklı dozlarda uygulanan IL-6'nın doza bağımlı olarak PMNL infiltrasyonunu ve akciğer hasarını artırdığı göstermişlerdir (82).

Yapılan çalışmalar incelendiğinde IL-6'nın inflamatuvar sistem üzerine proinflamatuvar ve antiinflamatuvar olarak iki etkisi olduğu görüldü. Antiinflamatuvar etkinin incelenmesi amacı ile yapılan çalışmalardan biri Aderka ve ark.'nın yaptığı çalışmada, IL-6 intraperitoneal olarak enjekte edilmiş ve plazma TNF ve IL-1 seviyeleri ölçülmüştür. IL-6'nın bu sitokinlerin salınmasını azalttığını tespit etmişlerdir (83).

Antiinflamatuvar etkinin belirtildiği diğer bir çalışmada Camargo ve ark. sistemik IL-6 uygulanması ile karaciğer hasarı ve TNF- $\alpha$  seviyesinin azaldığını, mortalite puanlarının düştüğünü bildirmişlerdir (84). Çalışmamızda hemorajik şok grubunda şok sonrası IL-6 değeri azalmış, G-CSF grubunda ise şok sonrası IL-6 değeri artmış olarak tespit edildi. Zhi hong Meng ve ark. hemorajik şok uyguladıkları ratlarda, IL-6 tedavisinin akciğer hasarını azalttığını bildirmişlerdir (33). Çalışmamızda hemorajik şok grubunda akciğer hasarının şiddetli, beta-glukan ve G-CSF grubunda ise akciğer hasarının daha hafif olmasının Camargo ve Aderka'nın bulgularıyla açıklanabileceği düşünüldü. Beta-glukan uygulanan grupta hemorajik şok sonrasında IL-6 değerinde artış tespit edildi.

Deneysel çalışmalarda beta-glukanın IL-6 üzerinde salınımı artırıcı etkileri olduğu bildirilmiştir. Babayiğit ve ark. nin sepsis modelinde beta-glukan tedavisinin IL-6 seviyesini artırdığı ve bunun inflamatuvar cevaptaki koruyucu etkisinden kaynaklandığı belirtilmiştir (85). Biz çalışmamızda beta-glukan uygulanan grupta IL-6 seviyesinin artışının glukanın immün koruyucu etkisine bağlı olabileceğini düşündük.

IL-10 antiinflamatuvar özelliği olan bir sitokindir. Endotoksemi modeli olan çalışmalarda plazma seviyesinin arttığı ve makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azalttığı bildirilmiştir (34,86,87). Birçok çalışmada IL-10'un antijen sunucu hücreler olan monosit ve makrofajların immün yanıtını inhibe ettiği gösterilmiştir (88-90).

IL-10'un etkisinin incelendiği çalışmalarda; hemorajik şok, travma ve sepsisin immün yanıtı deprese ettiği gösterilmiştir (91,92). Çalışmamızda hemorajik şok sonrası IL-10 değerleri tüm gruplarda azalmış olarak tespit edildi.

Schneider ve ark. travma-hemoraji uyguladıkları ratlarda inflamatuvar sitokinlerin plazma seviyelerini incelemiş ve IL-10'un resüsitasyon sonrası erken dönemde yükseldiğini, resüsitasyondan 2 saat sonra pik düzeye ulaşmış, 4 saat sonra bazal seviyeye döndüğünü göstermişlerdir (93). Reperfüzyon sonrası 4. saate kadar olan süreçte IL-10 değerleri ölçülmüş olan iki ayrı çalışmada ise IL-10 seviyesi yüksekliğinin akciğer hasarını azalttığı gösterilmiştir (94,95). Barsig ve ark. (96) sepsis modelinde IL-10 yükselmesinin resüsitasyondan 1.5 saat sonra ve 8-12 saat sonra olmak üzere bifazik olduğunu bildirmişlerdir. Bunun aksine travma veya sepsis sonrası 21. güne kadar olan IL-10 yüksekliğinden bahseden çalışmalar da vardır (97-99). Song ve ark., sepsis modelinde IL-10'un erken fazda yükselmesinin iyi bir gösterge olmadığını, buna karşın 12 saat sonraki pik seviyenin prognoz daha iyi olduğunun göstergesi olduğunu belirtmişlerdir (100).

Çalışmamızda tüm gruplarda tespit edilen IL-10 düzeyi azalmasının, kan örneklerinin hemorajik şok sonrası 24. saatte alınmasına bağlı olarak, plazma serum seviyesinin ölçülemeyecek düzeye inmiş olması olasılığından kaynaklanabileceği düşünüldü.

TNF- $\alpha$ , ağırlıklı olarak nötrofiller, vasküler endotel hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilir (101). TNF- $\alpha$  üretiminin hemoraji ve iskemi durumlarında da arttığı gösterilmiştir. TNF- $\alpha$  düzeylerinin deneysel hemorajik şok modellerinde mortalite ile korelasyonu vardır (36). Yarı ömrü kısa olmasına rağmen TNF- $\alpha$ 'nın kısa süreli ortamda bulunması bile önemli metabolik ve hemodinamik değişikliklerin gelişmesine ve döngünün ileri kısmındaki sitokinlerin aktive olmasına neden olur (31).

Schneider ve ark., TNF- $\alpha$  seviyesinin şok resüsitasyonundan sonra 8 saat süresince yüksek kaldığını bildirmişlerdir (93). Zhao ve ark. (102) hemorajik şok modeli uyguladıkları ratlarda, şok sonrası dokulardaki sitokin yükselme ve azalma zamanlarını çalışmışlar ve TNF- $\alpha$ 'nın 3-12 saat süresince serumda ölçülebildiğini bildirmişlerdir. Jiang ve ark. (36) hemorajik şok sonrası vital organlar ve plazma

sitokin seviyelerinin resüsitasyon sonrası belirli saatlerdeki değerlerini karşılaştırmışlar ve şok sonrası TNF- $\alpha$  ve IL-1'in erken fazda yükseldiğini; resüsitasyondan 3 saat sonra ise doku değerleri yüksek kalmasına rağmen plazma TNF- $\alpha$  ve IL-1 seviyelerinin bazal değere indiğini göstermişlerdir. Bunun sonucunda hemorajik şok sonrası organ hasarında doku sitokin salınımının önemli rol oynadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda hemorajik şok grubunda şok sonrası TNF- $\alpha$  değeri azalmış olarak tespit edildi.

Molina ve ark. (77) hemorajik şok modelinde, şoktan hemen sonra, resüsitasyondan sonra ve resüsitasyondan 1,5 saat sonra plazma ve doku sitokinlerinin değerlerini karşılaştırdıklarında plazma ve doku TNF- $\alpha$  değerinin şok sonrası ve erken dönemde arttığını ve 1,5 saat sonra plazmada bazal değerlere dönerken dokuda aynı kaldığını göstermişlerdir. Çalışmamızda hemorajik şok sonrası serum örneklerinde TNF- $\alpha$  değerindeki azalmanın kan örneklerinin şok sonrası 24. saatte alınmasına bağlı olarak, plazma seviyesinin ölçülemeyecek düzeye inmiş olması olasılığından kaynaklanabileceği düşünüldü.

G-CSF granülotik progenitor hücrelerin diferansiyasyonunu ve büyümesini regüle eden, nötrofil oluşumu ve fonksiyonunun düzenlenmesinde fizyolojik olarak önemli rol olan bir glikoproteindir. Periferik nötrofil sayısında ve migrasyon işlevinde artış sağlar. Ancak nütropeni tedavisi sonrası akut akciğer hasarına yol açtığını bildiren çalışmalar vardır (103,104). Çalışmamızda G-CSF grubunda hemorajik şok sonrası TNF- $\alpha$  değeri artmış olarak tespit edildi.

Katoh (105) ve Niitsu (106) bu sonucun artan nötrofillerden salınan serbest oksijen radikalleri nedenli olduğunu bildirmişlerdir. Azoulay ve ark. (107) sağlıklı ratlara subkutan G-CSF uygulaması sonrası belirli saatlerde lökosit sayımı yapmışlar ve artan doza bağımlı olarak lökositlerin de arttığını bulmuşlardır.  $\alpha$ -naftilüre vererek akciğer hasarı oluşturdukları ratlarda, G-CSF'nin nötrofil sayısı ve adezyonu artırdığını; TNF- $\alpha$  seviyesini artırarak alveolar permeabilityi değiştirdiğini göstermişlerdir. G-CSF uygulanan gruptaki bulgularımız Azoulay ve ark. ile uyumlu idi. Beta-glukan uyguladığımız grupta hemorajik şok sonrası TNF- $\alpha$  değeri azalmış olarak tespit edildi.



Şener ve ark.'nın yaptığı çalışmada sepsis oluşturulan ratlarda beta-glukan tedavisinin inflamatuvar süreçte anahtar rol oynayan TNF- $\alpha$ 'nın yükselmesini azalttığı gözlenmiştir (108). Masih ve ark., beta glukan türevlerinin TNF- $\alpha$  üzerinde baskılayıcı etkisinin olduğunu ve inflamatuvar hasarın azaldığını bildirmişlerdir (71). Çalışmamızda beta-glukan uyguladığımız grupta TNF- $\alpha$  azalmasının bu bulgularla uyum sağladığı düşünüldü.

Çalışmamızda akciğer dokusu histopatolojik incelemesinde interstisyel PMNL, intraalveolar PMNL, alveolar septal kalınlık değişikliklerine bakıldı. Ayrıca histopatolojik olarak incelenen üç parametrenin toplamı alınarak kümülatif histolojik skor oluşturuldu.

Kontrol grubuna ait akciğer doku kesitlerinin mikroskopik değerlendirmesinde intraalveolar PMNL ve alveolar septal kalınlık yönünden hafif değişiklik, interstisyel PMNL yönünden orta derece değişiklikler görüldü.

Hemorajik şok uygulanan grupta akciğer doku incelenmesinde intraalveolar PMNL yönünden orta-şiddetli, interstisyel PMNL ve alveolar septal kalınlık yönünden şiddetli değişiklikler görüldü.

Hemorajik şok sonrası resüsitasyon ve G-CSF uygulanan grupta alveolar septal kalınlık yönünden orta-şiddetli değişiklik gözlenirken interstisyel PMNL ve intraalveolar PMNL yönünden şiddetli değişiklikler gözlemlendi.

Hemorajik şok sonrası resüsitasyon ve beta-glukan uygulanan grupta intraalveolar PMNL ve interstisyel PMNL yönünden orta derece değişiklik gözlenirken, alveolar septal kalınlık yönünden kontrol grubuna yakın değişiklikler gözlemlendi.

Histopatolojik olarak incelenen üç parametrenin toplamı alınarak oluşturulan kümülatif akciğer hasar skoruna göre de incelendiğinde, hemorajik şok ve G-CSF grubunda kontrol grubuna göre oluşan hasar anlamlı bulundu. Bununla birlikte bu iki grupta oluşan akciğer hasarının beta-glukan grubunda azalması da anlamlı bulundu.

Histopatolojik bulguların istatistiksel analizinde ortalama skorları alınan gruplarda interstisyel PMNL, intraalveolar PMNL, alveolar septal kalınlık ve akciğer hasar skoru yönünden anlamlı fark saptandı.

Grupların her biri kendi arasında karşılaştırılıp değişikliklerin istatistiki anlamlılığı incelendiğinde; Grup I ile Grup II arasında interstisyel PMNL, alveolar septal kalınlık, kümülatif akciğer hasar skoru yönünden anlamlı fark saptandı. Grup I ile Grup III arasında intraalveolar PMNL ve kümülatif akciğer hasar skoru yönünden anlamlı fark saptandı. Grup I ve IV arasında histopatolojik olarak anlamlı fark saptanmadı. Grup II ve III arasında histopatolojik incelemede anlamlı fark saptanmadı. Grup III ve IV arasında interstisyel PMNL, alveolar septal kalınlık, akciğer hasar skoru yönünden anlamlı fark saptandı. İntraalveolar PMNL yönünden fark yoktu.

Hemorajik şok sonucu, tüm dokularda olduğu gibi akciğerlerde de birtakım histopatolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Hemorajik şok sonrası İ-R'nun akciğer hasarına neden olduğu bilinmektedir. Hemorajik şok ve İ-R sonucu akciğerlerde interstisyel nötrofil-lökosit infiltrasyonu, vasküler konjesyon, amfizamatöz değişiklikler, kapillerler çevresinde lenfosit ve nötrofil-lökosit infiltrasyonu ve alveol lümenlerindeki makrofajlarda artış meydana gelmektedir (109). Akciğer hasarlanmasının esas nedeni nötrofillerle endotelin etkileşmesi sonucu gelişen daha önce açıkladığımız olaylar zinciridir.

Abraham ve ark., hemoraji sonrası oluşan akciğer hasarının mekanizmasını İ-R'a bağlı akciğer inflamatuvar hücre cevabı ve oksijen radikallerinin akciğer hücreleri üzerine etkilerine bağlamışlardır (110). Schumacher ve ark., travma sonrası hemoraji modelinde erken faz akciğer hasarının kapiller permeabilite artışına bağlı akciğer ödemi nedeniyle olduğunu göstermişlerdir (111).

Sepsiste nötrofillerin sayı ve fonksiyonlarını modüle etmek amacıyla uygulanan G-CSF'ün, aktive olmuş nötrofillerden serbestleşen reaktif oksijen metabolitleri ve veya proteazlar yoluyla endotel-epitel hasarına neden olabileceğini; akut respiratuvar distres sendromu (ARDS) ile sonuçlanabilen bir akciğer hasarlanmasına yol açabileceğini belirten veriler elde edilmiştir (112,113). Bu sonuçla benzer çalışması olan Fink ve ark. (114), G-CSF tedavisinin neden olduğu nötrofilinin akciğerde daha fazla lökosit sekestrasyonu ile sonuçlandığı görüşünü savunmuşlardır. Bir grup çalışmacı ise, G-CSF'ün sepsisin neden olduğu pulmoner nötrofil salınımını artırmadığı; nötrofil kökenli bir akciğer hasarlanmasına yol

açmadığı sonucuna varmışlardır (115,116). Biz çalışmamızda hemorajik şok sonrası G-CSF verilen ratlarda akciğer doku incelemesinde özellikle interstisyel PMNL ve intraalveolar PMNL skorlarının yüksek olduğunu ve akciğer hasar skorunun kontrol grubuna göre yüksek olduğunu tespit ettik.

Pulmoner mikrovasküler yatakta lökosekestrasyona ilave olarak alveolar boşluklar içerisinde de inflamatuvar hücrelerin varlığı gösterilmiştir. Pulmoner hasarın nötrofiller ve SOR ile artırıldığını destekleyen çalışmalar olduğu gibi, lökopeni ve serbest radikal temizleyicilerin koruyucu etkisinin olduğu da bilinmektedir (117).

Reperfüzyon hasarı dokunun yeniden oksijen ile karşılaşma sürecinde üretilen toksik SOR'ine bağlı gelişmektedir (118,119). Hücreler, serbest oksijen radikallerinin hasar yapıcı özelliklerine karşı doğal olarak oksidatif hasarı azaltmaya veya sınırlamaya yeteneklidirler. Bu hücre koruyucu mekanizmalar oksijen radikallerini gidermek ve detoksifiye etmek üzere düzenlenmiş birkaç enzim sistemini içerirler. Ancak bu savunma sistemleri yetersiz kalınca, SOR'leri zararlı etkiler yapabilirler. SOR'lerinin etkisini önlemede bazı maddeler denenmiş ve deneysel olarak İ-R hasarını önlemede etkili oldukları gösterilmiştir (120-122). SOR'i temizleyicilerinin deneysel ve klinik kullanımının etkinliğini gösteren çalışmalardan özellikle anlaşılan, antioksidanların reperfüzyon başlamadan önce uygulanmasıdır (123,124).

Antioksidanlar peroksidasyonu engelleyen ajanlardır. Bu ajanlar peroksitlerden aşırı serbest radikal oluşumunu ve doku hasarını engellerler. Deneysel olarak değişik sitoprotektif etkileri gösterilmiş antioksidanlar vardır (125). Bayrak ve ark., 30 rat üzerinde bilateral renal İ-R oluşturdukları modelde, antioksidan ajanların bölgesel koruyucu etkilerini göstermişlerdir (126).

Glukan polisakkarit yapısında bir maddedir ve nonspesifik bir immunostimulan olmasına rağmen potent etkisi makrofajlar üzerindedir. Gardiner, T makrofaj hücre kültürlerinde glukan verildiğinde, makrofajların daha büyük hale geldiğini, aderan yüzeylerinde artış olduğunu, fagositik, mikrobisidal, kemotaktik aktivitelerinde artış görüldüğünü ve olası antitümör aktivitelerinin arttığını belirtmiştir (64).

Beta-glukanların lökositlerin fagositik, sitotoksik aktivitelerini arttırarak reaktif oksijen ve nitrojen aracılı antimikrobiyal aktivitelerini arttırdığı ve direk olarak lökositleri aktif hale getirdiği gösterilmiştir (65). Deneysel çalışmalarda beta-glukanın makrofajlardan proinflamatuvar sitokinlerin salınımını azalttığı ve etkin bir serbest radikal süpürücü olarak görev yapabileceği ortaya konulmuştur (69). Beta-1,3-glukanın antioksidan etkisinin saptandığı ‘serbest radikal süpürücü etkisi’ deneyleri farklı organizmalarda tekrarlanmıştır (70). Radyasyon uygulaması sırasında ve sonrasında kan makrofajlarının incelendiği çalışmada hücreleri serbest radikal etkisinden koruyabildiği belirtilmiştir (127).

Çalışmamızda hemorajik şok sonrası beta-glukan verilen grubun akciğer doku incelenmesinde alveolar septal kalınlık artışını engellediği, interstisyel PMNL’yi azalttığı ve akciğer hasarını azalttığı tespit edildi. Hemorajik şok sonrası akciğerde oluşan İ-R hasarına interstisyel nötrofil-lökosit infiltrasyonu, kapillerler çevresinde lenfosit ve nötrofil-lökosit infiltrasyonu ve alveol lümenlerindeki makrofajlardan salınan inflamatuvar sitokinler neden olmaktadır.

Gerçekleştirdiğimiz deneysel çalışmanın verilerine dayanarak kontrollü hemorajik şok modelinde beta-glukanın immünomodülatör etkisi ile proinflamatuvar sitokin salınımı ve dokuda özellikle alveolar septal kalınlığı azaltarak akut akciğer hasarı üzerine iyileştirici etkisini gözledik. Bizim deneysel olarak gözlediğimiz bu iyileştirici etkinin geniş serilerde planlanmış klinik çalışmalar ile desteklenmesinin uygun olacağını düşünüyoruz.

## ÖZET

### **Kontrollü Hemorajik Şok Modelinde Oluşan Akut Akciğer Hasarı Üzerine G-CSF ve Beta- Glukan'ın Etkilerinin İncelenmesi**

Hemorajik şok, intravasküler kan volümünün azalması nedeni ile meydana gelen yetersiz doku perfüzyonudur. Şok'un resüsitasyonu sonucunda iskemi-reperfüzyon döngüsü sonrası oluşan inflamatuvar cevapta polimorfonükleer lökosit (PMNL)'ler endotel hücresi ile birleşir. PMNL'den açığa çıkan toksik maddeler sonucu endotelial tabakada hasar oluşur, kapiller permeabilite artar, alveolar ve interstisyel ödem gelişir.

Çalışmamızda hemorajik şok sonrası gelişen akut akciğer hasarı üzerine G-CSF ve beta-glukanın etkilerini incelemeyi amaçladık. Kırk adet yetişkin Wistar Albino cinsi erkek rat kullanıldı ve her grupta 10 adet rat olacak şekilde dört gruba ayrıldı. Yapılan girişimlerin hepsi genel anestezi altında gerçekleştirildi. Karotis arteri, hemorajik şok uygulamak ve kan örneği almak üzere kanüle edildi. Ortalama arteriyel kan basınçları 40 mmHg olacak şekilde kontrollü hemorajik şok oluşturuldu.

I. grupta arteriyel monitörizasyonu takiben, diğer tüm gruplarda ise hemorajik şok oluşturulduktan 1 ve 24 saat sonra kan örnekleri alınarak IL-1, IL-6, IL-10 ve TNF- $\alpha$  çalışıldı. I. saatin sonunda alınan kan hacminin 2 katı kadar ringer laktat verildi. II. grup hemorajik şok oluşturulduktan 1 saat sonra resüsite edildi. III. gruba hemorajik şok oluşturulduktan 1 saat sonra resüsitasyon ve intraperitoneal yoldan 3  $\mu$ g/kg dan G-CSF uygulandı. IV. gruptaki ratlara hemorajik şok oluşturulduktan 1 saat sonra resüsitasyon ve intraperitoneal yoldan 4 mg/kg dan beta-glukan uygulandı. Ratlardan median sternotomi ile akciğer doku örneği alınarak histopatolojik olarak incelendi.

G-CSF uygulanan III. grupta; plazma TNF- $\alpha$  düzeyi yüksek, akciğer doku örneğinde interstisyel PMNL, intraalveolar PMNL ve alveolar septal kalınlık yönünden şiddetli derece hasar saptandı. Beta-glukan uygulanan IV. grupta; plazma TNF- $\alpha$  düzeyi düşük, akciğer doku örneğinde interstisyel PMNL, intraalveolar PMNL ve özellikle alveolar septal kalınlık yönünden hasarın daha az olduğu saptandı.

Çalışmamızda G-CSF uygulanan grupta akciğer hasarının şiddetli, beta-glukan uygulanan grupta ise hasarın daha az olduğu saptandı. G-CSF'ün nötrofil sayısı ve adezyonunu artırarak akciğer hasarını artırdığı ve doz bağımlı olarak plazma TNF- $\alpha$  düzeyini yükselttiği; beta-glukan uygulanması ile TNF- $\alpha$  düzeyinin baskılandığı, inflamatuvar yanıtın azalması nedeniyle; beta-glukanın hemorajik şok sonrası gelişen akut akciğer hasarını önlemede, hasarın derecesini azaltarak, iyileşme üzerine olumlu etkisinin olduğunu düşünüyoruz.

**Anahtar Sözcükler:** Hemorajik Şok, Akut Akciğer Hasarı, G-CSF, Beta-Glukan.

## SUMMARY

### **Evaluating Effects of G-CSF and Betaglucan on Acute Lung Injury in Controlled Hemorrhagic Shock Model**

Hemorrhagic shock is in adequate tissue perfusion due to loss of intravascular blood volume. Cell injury, acidosis, septic complications may occur after hypoxia of body tissue and damage of metabolism. That condition enhances tissue injury by inducing physiopathological factors that cause organ failure and death due to multiple organ failure occur.

We aimed to investigate the effects of G-CSF and beta-glucan on acute lung injury that occurs following hemorrhagic shock.

All of the procedures were performed under general anaesthesia. The carotid artery has been cannulated in order to draw blood samples and to perform hemorrhagic shock. Controlled hemorrhagic shock was performed as the mean arterial pressure was set at 40 mmHg.

In the first group following arterial monitoring and in all of the other groups at post hemorrhagic shock 1<sup>st</sup> and 24<sup>th</sup> hours IL-1, IL-6, IL-10 and TNF- $\alpha$  were studied by collecting blood samples. Ringer lactate solution at twofold volume of blood was infused at end of the 1<sup>st</sup> hour.

In group II, resuscitation was performed after 1 hour. In group III, resuscitation and 3  $\mu$ g/kg G-CSF intraperitoneally was administered after hemorrhagic shock. In group IV, resuscitation and 4 mg/kg beta-glucan intraperitoneally was administered after hemorrhagic shock.

Lung tissue samples were taken by median sternotomy and the samples were examined histopathologically.

It was determined that G-CSF caused lung tissue injury by enhancing the number and function of neutrophils since in this group the level of TNF- $\alpha$  was high and also severe injury with respect to interstitial and intraalveolar PMNL and alveolar septal thickness was observed.

In beta-glucan performed group; the agent was found to effect preventing to lung injury positively, since TNF- $\alpha$  the acute phase reactant was found low and injury was less severe with respect to interstitial and intraalveolar PMNL and alveolar septal thickness.

**Key words:** Hemorrhagic Shock, Acute Lung Injury, G-CSF, Beta-glucan.

## KAYNAKLAR

1. Tümay V, Tokyay R. Hipovolemik Şok. Yoğun Bakım Dergisi 2002; 2(4): 246-54.
2. Hierholzer C, Billiar TR. Molecular mechanisms in the early phase of hemorrhagic shock. *Langenbecks Arch Surg.* 2001; 386: 302-8.
3. Van der Kaaij NP, Kluin J, Haitsma JJ, den Bakker MA, Lambrecht BN, Lachmann B, de Bruin RW, Bogers AJ. Ischemia of the lung causes extensive long-term pulmonary injury: an experimental study. *Respir Res.* 2008; 9:28.
4. Hierholzer C, Kelly E, Lyons V, Roedling E, Davies, P, Billiar TR, Tweardy DJ. G-CSF instillation into rat lungs mediates neutrophil recruitment, pulmonary edema and hypoxia. *J Leukoc. Biol.* 1998; 63: 169-74.
5. Dale DC, Liles WC, Summer WR, Nelson S. Review: granulocyte colony-stimulating factor-role and relationships in infectious diseases. *J Infect Dis.* 1995; 172: 1061-75.
6. Li J, Li DF, Xing JJ, Cheng ZB, Lai CH. Effects of beta-glucan extracted from *Saccharomyces cerevisiae* on growth performance, and immunological and somatotropic responses of pigs challenged with *Escherichia coli* lipopolysaccharide. *J Anim Sci.* 2006; 84: 2374-81.
7. Greenburg AG, Simms HH. Pathophysiology of shock. In: Miller TA (ed), *Modern Surgical Care: Physiologic Foundations and Clinical Applications* (2nd ed). St. Louis : Quality Medical Publishing, Inc., 1998;197-219.
8. Peitzman AB, Billiar TR, Harbrecht BG, Kelly E, Udekwu AO, Simmons RL. Hemorrhagic shock. *Curr Probl Surg.* 1995; 32 (11): 925-1002.
9. Guyton, AC. Shock. *Textbook of Medical Physiology* 9th Ed, Guyton AC, Hall JE (eds). WB Saunders: Philadelphia, 1996; p: 285-94.
10. Shires GT III, Shires GT, Carrico CJ. Shock. In: Schwartz SI, Shires GT, Spencer FC, eds. *Principles of Surgery*.6th ed. New York, NY: McGraw-Hill; 1994; p: 119-44.
11. Waller DG. The circulating renin-angiotensin system and the response to hypotension. *Clin Exp Allergy.* 1993 Sep; 23 (9): 718-21.
12. Lipinska S, Forys S, Lipinska J. The post-haemorrhagic vasopressin release into the blood. *J Physiol Pharmacol.* 2004; 55 (1): 73-83.
13. Groza P, Boros I. Plasma renin activity, aldosterone and cortisol secretions after acute hemorrhage and supine to vertical postural change in dogs. *J Gravit Physiol.* 1995; 2(1): 29-30.

14. Britt LD, Weireter LJ Jr, Riblet JL, Asensio JA, Maull K. Priorities in the management of profound shock. *Surg Clin North Am.* 1996; 76: 645-60.
15. Szabó C. Poly (ADP-ribose) polymerase activation and circulatory shock. *Novartis Found Symp. Review.* 2007; 280: 92-103.
16. Singri N, Ahya SN, Levin ML: Acute Renal Failure. *JAMA* 2003; 289: 747-51.
17. Weight SC, Bell PRF, Nicholson ML. Renal ischemia-reperfusion injury. *Br J Surg.* 1996; 83: 162-70.
18. Arden W, Yacko M, Jay M, Beihn RM, Derbin M, Gross DR, Schwartz RW Scintigraphic evaluation of bacterial translocation during hemorrhagic shock. *J Surg Res.* 1993; 54: 102-6.
19. Zmijewski JW, Lorne E, Zhao X, Tsuruta Y, Sha Y, Liu G, Siegal GP, Abraham E. Mitochondrial respiratory complex I regulates neutrophil activation and severity of lung injury. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008 Jul 15;178 (2):168-79.
20. Van Way CW, Dhar A, Reddy R, Evans L, Wogahn B, Helling TS. Changes in adenine nucleotides during hemorrhagic shock and reperfusion. *J Surg Res.* 1996 Dec; 66 (2): 159-66.
21. Kubes P, Hunter J, Granger DN. Effects of cyclosporin A and FK506 on ischemia/reperfusion-induced neutrophil infiltration in the cat. *Dig Dis Sci.* 1991; 36: 1469-72.
22. Tweardy DJ, Khoshnevis MR, Yu B, Mastrangelo MA, Hardison EG, López JA. Essential role for platelets in organ injury and inflammation in resuscitated hemorrhagic shock. *Shock.* 2006 Oct; 26 (4): 386-90.
23. Toyokuni S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology. *Pathol Int.* 1999; 49: 91-102.
24. Rees R, Smith D, Li TD, Cashmer B, Garner W, Punch J, Smith DJ Jr. The role of xanthine oxidase and xanthine dehydrogenase in skin ischemia. *J Surg Res.* 1994; 56: 162-7.
25. Belova LA. Biochemistry of inflammatory processes and vascular injury. Role of neutrophils: a review. *Biochemistry (Mosc).* 1997 Jun; 62 (6):563-70.
26. Peitzman AB, Billiar TR, Harbrecht BG, Kelly E, Udekwu AO, Simmons RL. Hemorrhagic shock. Review. *Curr Probl Surg.* 1995 Nov; 32 (11): 925-1002.
27. Olofsson AM, Arfors KE, Ramezani L, Wolitzky BA, Butcher EC, von Andrian UH. E-selectin mediates leukocyte rolling in interleukin-1-treated rabbit mesentery venules. *Blood.* 1994 Oct 15; 84 (8): 2749-58.
28. Smith SR, Terminelli C, Kenworthy-Bott L, Calzetta A, Donkin J. The cooperative effects of TNF-alpha and IFN-gamma are determining factors in the



- ability of IL-10 to protect mice from lethal endotoxemia. *J Leukoc Biol.* 1994; 55: 711-8.
29. Filep J, Hermán F, Braquet P, Mózes T. Increased levels of platelet-activating factor in blood following intestinal ischemia in the dog. *Biochem Biophys Res Commun.* 1989; 158: 353-9.
  30. Krishnadasan B, Naidu BV, Byrne K, Fraga C, Verrier ED, Mulligan MS. The role of proinflammatory cytokines in lung ischemia-reperfusion injury. *J Thorac Cardiovasc Surg J. Surg.* 2003; 125: 261-72.
  31. Nathan CF, Tsunawaki S. Secretion of toxic oxygen products by macrophages: regulatory cytokines and their effect on the oxidase. *Ciba Found Symp.* 1986; 118: 211-30.
  32. Fink MP. Intestinal epithelial hyperpermeability; update on the pathogenesis of gut mucosal barrier dysfunction in critical illness. *Curr Opin Crit Care.* 2003; 9: 143-51.
  33. Meng ZH, Dyer K, Billiar TR, Tweardy DJ. Essential role for IL-6 in postresuscitation inflammation in hemorrhagic shock. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001; 280: 343-51.
  34. Kaur K, Dhingra S, Slezak J, Sharma AK, Bajaj A, Singal PK. Biology of TNF alpha and IL-10 and their imbalance in heart failure. *Heart Fail Rev.* 2009 Jun;14 (2):113-23.
  35. Armstrong L, Millar AB. Relative production of tumour necrosis factor alpha and interleukin 10 in adult respiratory distress syndrome. *Thorax.* 1997; 52: 442-6.
  36. Jiang J, Bahrami S, Leichtfried G, Redl H, Ohlinger W, Schlag G. Kinetics of endotoxin and tumor necrosis factor appearance in portal and systemic circulation after hemorrhagic shock in rats. *Ann Surg.* 1995; 221: 100-6.
  37. Bhatia M, Mochhala S. Role of inflammatory mediators in the pathophysiology of acute respiratory distress syndrome. *J Pathol.* 2004; 202: 145-56.
  38. Salvemini D, Cuzzocrea S. Oxidative stress in septic shock and disseminated intravascular coagulation. *Free Radic Biol Med. Review.* 2002; Nov 1; 33 (9): 1173-85.
  39. Canas PE. The role of xanthine oxidase and the effects of antioxidants in ischemia reperfusion cell injury. *Acta Physiol Pharmacol Ther Latinoam. Review.* 1999; 49 (1):13-20.
  40. Zweier JL, Talukder MA. The role of oxidants and free radicals in reperfusion injury. *Cardiovasc Res. Review.* 2006; May 1; 70 (2): 181-90.

41. Parks DA, Williams TK, Beckman JS. Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol.* 1988; 254: 768-74.
42. Prasad K. Oxygen radicals and peripheral vascular disease. In: Chang JB, Olsen ER, Prasad K, Sumpio BE (eds). *Textbook of Angiology.* Springer-Verlag: New York. 2000; p: 427-38.
43. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.*1993; 49: 481-93.
44. Liaw WJ, Chen TH, Lai ZZ, Chen SJ, Chen A, Tzao C, Wu JY, Wu CC. Effects of a membrane-permeable radical scavenger, tempol, on intraperitoneal sepsis-induced organ injury in rats. *Shock.* 2005 Jan; 23(1): 88-96.
45. Abdelrahman M, Mazzon E, Bauer M, Bauer I, Delbosc S, Cristol JP, Patel NS, Cuzzocrea S, Thiemermann C. Inhibitors of NADPH oxidase reduce the organ injury in hemorrhagic shock. *Shock.* 2005 Feb; 23 (2):107-14.
46. Biesalski HK, Böhles H, Esterbauer H, Fürst P, Gey F, Hundsdörfer G, Kasper H, Sies H, Weisburger J. Antioxidant vitamins in prevention. *Clin Nutr.* 1997; 16: 151-5.
47. Grace PA. Ischaemia-reperfusion injury. *Br J Surg.* 1994; 81: 637-47.
48. Tanaka N. Induction mechanism of shock: applying the etiology in judgment of the cause of death in forensic practice. *Nihon Hoigaku Zasshi.* 2004 Sep; 58 (2):130-40.
49. Kelly RF. Current strategies in lung preservation. *J Lab Clin Med.* 2000; 136: 427-40.
50. Kukreja RC, Hess ML. The oxygen free radical system: from equations through membrane-protein interactions to cardiovascular injury and protection. *Cardiovasc Res.* 1992; 26: 641-55.
51. Qin W, Yu YH, Sheng C. Protective effect of hypotensive fluid resuscitation against lung ischemia-reperfusion injury in pregnant rabbits with uncontrolled hemorrhagic shock. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao.* 2008 Jun; 28 (6):1042-4.
52. Xu DP, Washburn MP, Sun GP, Wells WW. Purification and characterization of a glutathione dependent dehydroascorbate reductase from human erythrocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 1996 Apr 5; 221 (1): 117-21.
53. Matés JM, Pérez-Gómez C, Núñez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. *Clin Biochem.* 1999; 32: 595-603.

54. Dinçol G, Aktan M, Diz-Küçükaya R, Yavuz S, Nalçacı M, Oztürk S, Palanduz S, Doğan O, Ağan M. Treatment of acquired severe aplastic anemia with antilymphocyte globulin, cyclosporin A, methylprednisolone, and granulocyte colony-stimulating factor. *Am J Hematol*. 2007 Sep; 82 (9):783-6.
55. McInnes CJ, Deane D, Thomson J, Broad A, Haig DM. The cloning and expression of the cDNA for ovine stem cell factor (kit-ligand) and characterization of its in vitro haematopoietic activity. *Cytokine*. 1999 Apr;11(4): 249-56.
56. Sehara Y, Hayashi T, Deguchi K, Zhang H, Tsuchiya A, Yamashita T, Lukic V, Nagai M, Kamiya T, Abe K. Potentiation of neurogenesis and angiogenesis by G-CSF after focal cerebral ischemia in rats. *Brain Res*. 2007; 1151: 142-9.
57. Asano S. Human granulocyte colony-stimulating factor: its basic aspects and clinical applications. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1991; 13: 400-13.
58. Hierholzer C, Kelly E, Billiar TR, Tweardy DJ. Granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF) production in hemorrhagic shock requires both the ischemic and resuscitation phase. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1997;116:173-6.
59. Kerst JM, de Haas M, van der Schoot CE, Slaper-Cortenbach IC, Kleijer M, von dem Borne AE, van Oers RH. Recombinant granulocyte colony-stimulating factor administration to healthy volunteers: induction of immunophenotypically and functionally altered neutrophils via an effect on myeloid progenitor cells. *Blood*. 1993; 82: 3265-72.
60. Koyama S, Sato E, Masubuchi T, Takamizawa A, Kubo K, Nagai S, Izumi T. Alveolar type II-like cells release G-CSF as neutrophil chemotactic activity. *Am J Physiol*. 1998 Oct; 275 (4;1): 687-93.
61. Couderc LJ, Stelianides S, Frachon I, Stern M, Epardeau B, Baumelou E, Caubarrere I, Hermine O. Pulmonary toxicity of chemotherapy and G/GM-CSF: a report of five cases. *Respir Med*. 1999; 93: 65-8.
62. Adachi Y, Ohno N, Yadomae T. Inhibitory effect of beta-glucans on zymosan-mediated hydrogen peroxide production by murine peritoneal macrophages in vitro. *Biol Pharm Bull*. 1993 May;16 (5): 462-7.
63. Bedirli A, Gokahmetoglu S, Sakrak O, Ersoz N, Ayangil D, Esin H. Prevention of intraperitoneal adhesion formation using beta-glucan after ileocolic anastomosis in a rat bacterial peritonitis model. *Am J Surg* 2003;185: 339-43.
64. Mohaghegpur N, Dawson M, Hobbs P, Judd A, Winant R, Dousman L, Waldeck N, Hokama L, Tuse D, Kos F. Glucans as immunological adjuvants. *Adv Exp Med Biol* 1995; 383: 13-22.
65. Brown GD, Gordon S. Fungal beta-glucans and mammalian immunity. *Immunity*. 2003; 19: 311-5.

66. Carrow DJ.  $\beta$ -1,3 Glucan is a primary immune activator. *Townsend Lett.* 1996; p: 86-91.
67. Wei D, Zhang L, Williams DL, Browder IW. Glucan stimulates human dermal fibroblast collagen biosynthesis through a nuclear factor-1 dependent mechanism. *Wound Repair Regen.* 2002 May-Jun;10 (3):161-8.
68. Brown GD, Taylor PR, Reid DM, Willment JA, Williams DL, Martinez-Pomares L, Wong SY, Gordon S. Dectin-1 is a major beta-glucan receptor on macrophages. *J Exp Med.* 2002; 196: 407-12.
69. Kayali H, Ozdag MF, Kahraman S, Aydin A, Gonul E, Sayal A, Odabasi Z, Timurkaynak E. The antioxidant effect of beta-Glucan on oxidative stress status in experimental spinal cord injury in rats. *Neurosurg Rev.* 2005; 28: 298-302.
70. Babincova M, Bacova Z, Machova E, Kogan G. Antioxidant properties of carboxymethyl glucan: comparative analysis. *J Med Food* 2002; 5: 79-83.
71. Masihi KN, Madaj K, Hintelmann H, Gast G, Kaneko Y. Down-regulation of tumor necrosis factor-alpha, moderate reduction of interleukin-1beta, but not interleukin-6 or interleukin-10, by glucan immunomodulators curdlan sulfate and lentinan. *Int J Immunopharmacol.* 1997; 19: 463-8.
72. Krizkova L, Durackova Z, Sandula J, Slamenova D, Sasinkova V, et al. Fungal beta-(1-3)-d-glucan derivatives exhibit high antioxidative and antimutagenic activity in vitro. *AnticancerRes* 2003; 23(3B): 2751-6.
73. Zimmerman BJ, Granger DN. Reperfusion injury. *Surg Clin North Am.* 1992; 72: 65-83.
74. Kishima H, Takeda S, Miyoshi S, Matsumura A, Minami M, Utsumi T, Omori K, Nakahara K, Matsuda H. Microvascular permeability of the non-heart-beating rabbit lung after warm ischemia and reperfusion: role of neutrophil elastase. *Ann Thorac Surg.* 1998 Apr; 65(4): 913-8.
75. Köksoy C, Kuzu MA, Kuzu I, Ergün H, Gürhan I. Role of tumour necrosis factor in lung injury caused by intestinal ischaemia-reperfusion. *Br J Surg.* 2001; 88: 464-8.
76. Thorley AJ, Ford PA, Giembycz MA, Goldstraw P, Young A, Tetley TD. Differential regulation of cytokine release and leukocyte migration by lipopolysaccharide-stimulated primary human lung alveolar type II epithelial cells and macrophages. *J Immunol.* 2007 Jan 1;178 (1): 463-73.
77. Molina PE, Malek S, Lang CH, Qian L, Naukam R, Abumrad NN. Early organ-specific hemorrhage-induced increases in tissue cytokine content: associated neurohormonal and opioid alterations. *Neuroimmunomodulation.* 1997; 4:28-36.

78. Wichmann MW, Zellweger R, DeMaso CM, Ayala A, Chaudry IH. Enhanced immune responses in females, as opposed to decreased responses in males following haemorrhagic shock and resuscitation. *Cytokine*. 1996; 8: 853-63.
79. Jiang J, Tian K, Diao Y, Chen H, Zhu P, Wang Z. Expression of TNF alpha, IL-1 beta, IL-6 mRNA, release of TNF alpha in vital organs and their relationship with endotoxin translocation following hemorrhagic shock. *Chin Med Sci J*. 1997; 12: 41-6.
80. Hartung T, Döcke WD, Gantner F, Krieger G, Sauer A, Stevens P, Volk HD, Wendel A. Effect of granulocyte colony-stimulating factor treatment on ex vivo blood cytokine response in human volunteers. *Blood*. 1995; 85: 2482-9.
81. Hierholzer C, Kalff JC, Bednarski B, Memarzadeh F, Kim YM, Billiar TR, Tweardy DJ. Rapid and simultaneous activation of Stat3 and production of interleukin 6 in resuscitated hemorrhagic shock. *Arch Orthop Trauma Surg*. 1999; 119: 332-6.
82. Hierholzer C, Kalff JC, Omert L, Tsukada K, Loeffert JE, Watkins SC, Billiar TR, Tweardy DJ. Interleukin-6 production in hemorrhagic shock is accompanied by neutrophil recruitment and lung injury. *Am J Physiol*. 1998; 275: L611-21.
83. Aderka D, Le JM, Vilcek J. IL-6 inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor production in cultured human monocytes, U937 cells, and in mice. *J Immunol*. 1989; 143: 3517-23.
84. Camargo CA Jr, Madden JF, Gao W, Selvan RS, Clavien PA. Interleukin-6 protects liver against warm ischemia/reperfusion injury and promotes hepatocyte proliferation in the rodent. *Hepatology*. 1997; 26: 1513-20.
85. Babayigit H, Kucuk C, Sozuer E, Yazici C, Kose K, Akgun H. Protective effect of beta-glucan on lung injury after cecal ligation and puncture in rats. *Intensive Care Med*. 2005; 31: 865-70.
86. Kwon AH, Qiu Z, Nagahama H, Kaibori M, Kamiyama Y. Fibronectin suppresses apoptosis and protects mice from endotoxic shock. *Transplant Proc*. 2004 Oct; 36 (8): 2432-5.
87. Van der Poll T, Jansen PM, Montegut WJ, Braxton CC, Calvano SE, Stackpole SA, Smith SR, Swanson SW, Hack CE, Lowry SF, Moldawer LL. Effects of IL-10 on systemic inflammatory responses during sublethal primate endotoxemia. *J Immunol*. 1997; 158: 1971-5.
88. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001; 19: 683-765.
89. Ding L, Linsley PS, Huang LY, Germain RN, Shevach EM. IL-10 inhibits macrophage costimulatory activity by selectively inhibiting the up-regulation of B7 expression. *J Immunol*. 1993; 151: 1224-34.

90. de Waal Malefyt R, Abrams J, Bennett B, Figdor CG, de Vries JE. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med*. 1991; 174: 1209-20.
91. Ayala A, Lehman DL, Herdon CD, Chaudry IH. Mechanism of enhanced susceptibility to sepsis following hemorrhage. Interleukin-10 suppression of T-cell response is mediated by eicosanoid-induced interleukin-4 release. *Arch Surg*. 1994; 129: 1172-8.
92. Kelly JL, Lyons A, Soberg CC, Mannick JA, Lederer JA. Anti-interleukin-10 antibody restores burn-induced defects in T-cell function. *Surgery*. 1997; 122: 146-52.
93. Schneider CP, Schwacha MG, Chaudry IH. The role of interleukin-10 in the regulation of the systemic inflammatory response following trauma-hemorrhage. *Biochim Biophys Acta*. 2004; 1689: 22-32.
94. Welborn MB 3rd, Moldawer LL, Seeger JM, Minter RM, Huber TS. Role of endogenous interleukin-10 in local and distant organ injury after visceral ischemia-reperfusion. *Shock*. 2003; 20: 35-40.
95. Farivar AS, Krishnadasan B, Naidu BV, Woolley SM, Verrier ED, Mulligan MS. Endogenous interleukin-4 and interleukin-10 regulate experimental lung ischemia reperfusion injury. *Ann Thorac Surg*. 2003; 76: 253-9.
96. Barsig J, Küsters S, Vogt K, Volk HD, Tiegs G, Wendel A. Lipopolysaccharide-induced interleukin-10 in mice: role of endogenous tumor necrosis factor-alpha. *Eur J Immunol*. 1995; 25: 2888-93.
97. Rogy MA, Auffenberg T, Espat NJ, Philip R, Remick D, Wollenberg GK, Copeland EM 3rd, Moldawer LL. Human tumor necrosis factor receptor (p55) and interleukin 10 gene transfer in the mouse reduces mortality to lethal endotoxemia and also attenuates local inflammatory responses. *J Exp Med*. 1995; 181: 2289-93.
98. Giannoudis PV, Smith RM, Perry SL, Windsor AJ, Dickson RA, Bellamy MC. Immediate IL-10 expression following major orthopaedic trauma: relationship to anti-inflammatory response and subsequent development of sepsis. *Intensive Care Med*. 2000; 26: 1076-81.
99. Neidhardt R, Keel M, Steckholzer U, Safret A, Ungethuem U, Trentz O, Ertel W. Relationship of interleukin-10 plasma levels to severity of injury and clinical outcome in injured patients. *J Trauma*. 1997; 42: 863-70; discussion 870-1.
100. Song GY, Chung CS, Chaudry IH, Ayala A. What is the role of interleukin 10 in polymicrobial sepsis: anti-inflammatory agent or immunosuppressant? *Surgery*. 1999; 126:378-83.

101. Baker EA, El-Gaddal S, Williams L, Leaper DJ. Profiles of inflammatory cytokines following colorectal surgery: relationship with wound healing and outcome. *Wound Repair Regen.* 2006; 14: 566-72.
102. Zhao ZG, Niu CY, Zhang J, Liu YK, Zhang YP, Jiang H, Li JC. Effect of mesenteric lymph duct ligation on lung injury in hemorrhagic shock. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue.* 2007; 19: 274-8.
103. Kitamura S, Kinouchi K, Fukumitsu K, Takeuchi M, Matsuyama M, Miyamoto Y. A risk of pulmonary edema associated with G-CSF pretreatment. *Masui.* 1997; 46: 946-50.
104. Ruiz-Argüelles GJ, Arizpe-Bravo D, Sánchez-Sosa S, Rojas-Ortega S, Moreno-Ford V, Ruiz-Argüelles A. Fatal G-CSF-induced pulmonary toxicity. *Am J Hematol.* 1999; 60: 82-3.
105. Katoh M, Takada M, Nakayama M, Umeda M. Pulmonary toxicity during granulocyte colony stimulating factor administration and neutrophils. *Chest.* 1996; 110: 576-7.
106. Niitsu N, Iki S, Muroi K, Motomura S, Murakami M, Takeyama H, Ohsaka A, Urabe A. Interstitial pneumonia in patients receiving granulocyte colony-stimulating factor during chemotherapy: survey in Japan 1991-96. *Br J Cancer.* 1997; 76: 1661-6.
107. Azoulay E, Attalah H, Yang K, Jouault H, Schlemmer B, Brun-Buisson C, Brochard L, Harf A, Delclaux C. Exacerbation by granulocyte colony-stimulating factor of prior acute lung injury: implication of neutrophils. *Crit Care Med.* 2002; 30: 2115-22.
108. Sener G, Toklu H, Ercan F, Erkanli G. Protective effect of beta-glucan against oxidative organ injury in a rat model of sepsis. *Int Immunopharmacol.* 2005; 5: 1387-96.
109. Aydin G, Çiçek E, Akdoğan M, Gökalp O. Histopathological and biochemical changes in lung tissues of rats following administration of fluoride over several generations. *J Appl Toxicol.* 2003; 23: 437-46.
110. Abraham E, Arcaroli J, Shenkar R. Activation of extracellular signal-regulated kinases, NF-kappa B, and cyclic adenosine 5'-monophosphate response element-binding protein in lung neutrophils occurs by differing mechanisms after hemorrhage or endotoxemia. *J Immunol.* 2001; 166: 522-30.
111. Schumacher J, Binkowski K, Dendorfer A, Klotz KF. Organ-specific extravasation of albumin-bound Evans blue during nonresuscitated hemorrhagic shock in rats. *Shock.* 2003; 20: 565-8.
112. King J, Deboisblanc BP, Mason CM, Onofrio JM, Lipscomb G, Mercante DE, Summer WR, Nelson S. ii. Effect of granulocyte colony-stimulating factor on acute lung injury in the rat. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995; 151: 302-9.

113. Terashima T, Kanazawa M, Sayama K, Ishizaka A, Urano T, Sakamaki F, Nakamura H, Waki Y, Tasaka S. Granulocyte colony-stimulating factor exacerbates acute lung injury induced by intratracheal endotoxin in guinea pigs. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994; 149: 1295-303.
114. Fink MP, O'Sullivan BP, Menconi MJ, Wollert SP, Wang H, Youssef ME, Belleisle JM. Effect of granulocyte colony-stimulating factor on systemic and pulmonary responses to endotoxin in pigs. *J Trauma.* 1993; 34: 571-7.
115. Lundblad R, Nesland JM, Giercksky KE. Granulocyte colony-stimulating factor improves survival rate and reduces concentrations of bacteria, endotoxin, tumor necrosis factor, and endothelin-1 in fulminant intra-abdominal sepsis in rats. *Crit Care Med.* 1996; 24: 820-6.
116. Toda H, Murata A, Matsuura N, Uda K, Oka Y, Tanaka N, Mori T. Therapeutic efficacy of granulocyte colony stimulating factor against rat cecal ligation and puncture model. *Stem Cells.* 1993; 11: 228-34.
117. Klausner JM, Anner H, Paterson IS, Kobzik L, Valeri CR, Shepro D, Hechtman HB. Lower torso ischemia-induced lung injury is leukocyte dependent. *Ann Surg.* 1988; 208: 761-7.
118. Allen RC, Stevens PR, Price TH, Chatta GS, Dale DC. In vivo effects of recombinant human granulocyte colony-stimulating factor on neutrophil oxidative functions in normal human volunteers. *J Infect Dis.* 1997; 175: 1184-92.
119. Schwartz MA. Integrins: emerging paradigms of signal transduction. *Annu Rev. Cell. Dev. Biol.* 1995; 11: 549-99.
120. Shimizu Y, Rose DM, Ginsber MH. Integrins in the immune system. *Advanc. Immunol.* 1999; 72: 325-81.
121. Springer TA. Adhesion receptors of the immune system. *Nature* 1990; 346: 425-34.
122. Fang J, Seki T, Maeda H. Therapeutic strategies by modulating oxygen stress in cancer and inflammation. *Adv Drug Deliv Rev.* 2009 Apr 28; 61(4): 290-302.
123. Werle-Haller B, Imhof BA. Integrin-dependent pathologies. *J Pathol* 2003; 200: 481-87.
124. Akin M, Kurukahvecioglu O, Gulbahar O, Isikgonul I, Taneri F, Tezel E, Onuk E. Comparison of the effects of sodium nitroprusside and L-carnitine in experimental ischemia-reperfusion injury in rats. *Transplant Proc.* 2007 Dec; 39 (10): 2997-3001.



125. Feller MA., Roth CA. Experimental evaluation of oxygen free radical scavengers in the prevention of reperfusion injury to skeletal muscle. *Ann Plast Surg.* 1989; 22: 321-31.
126. Bayrak O, Turgut F, Karatas OF, Cimentepe E, Bayrak R, Catal F, Atis O, Akcay A, Unal D. Oral beta-glucan protects kidney against ischemia/reperfusion injury in rats. *Am J Nephrol.* 2008 ; 28 (2): 190-6.
127. Schraufstatter IU, Hyslop P, Jackson J. Oxidant and protease injury of the lung. *Clin Resp Physio.* 1987; 23: 297-302.